Aus der Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und Aufnahme der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Becker

Experimentelle Untersuchung zur zweizeitigen gesteuerten Geweberegeneration.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Andrea Hegewald

2013

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf Dekan

Referent: Prof. Dr. Schwarz

Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. Dr. Depprich

Meinen Eltern gewidmet

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovic, V., Hegewald, A., Becker, J., (2012) Influence of two barrier membranes on staged guided bone regeneration and osseointegration of titanium implants in dogs: part 1. Augmentation using bone graft substitutes and autogenous bone. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:83-9.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorliegende Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf den 02.04.13

Andrea Hegewald

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Frank Schwarz für das Überlassen des Themas, seine hervorragende wissenschaftliche Betreuung und vor allem für seine Zeit und Geduld bei Fragen und Problemen.

Des Weiteren möchte ich Herrn Prof. Dr. Jürgen Becker für die zur Verfügung gestellten Räumlichkeiten, Geräte und Materialien danken.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. Ilja Mihatovic, Herrn Vladimir Golubovic, Herrn Julian Lommen und Frau Brigitte Hartig für die tatkräftige Unterstützung bei der histologischen Aufarbeitung der Proben und bei Fragen aller Art.

Aber vor allem möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, ohne die ein Studium und diese Doktorarbeit nicht möglich gewesen wären. Ihnen ist diese Arbeit gewidmet.

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss von zwei Barrieremembranen und zwei Knochenfüllstoffen auf eine zweizeitige, gesteuerte Knochenregeneration und auf die Osseointegration von Titanimplantaten zu untersuchen. Zur Verwendung kamen hierbei eine Polyethylenglykolmembran (PEG) und eine Kollagenmembran (CM), die entweder mit einem Gemisch aus bovinem Knochenmineral und autogenem Knochen (NBM+AB) oder einem Gemisch aus biphasischem Kalziumcarbonat und autogenem Knochen (SBC+AB) kombiniert wurden. Es wurden vier Satteltyp-Defekte in die Oberkiefer von sechs Foxhounds gesetzt und mit den obengenannten Materialkombinationen gefüllt respektive gedeckt. Nach acht Wochen Heilungsphase wurde die Insertion von modSLA Titanimplantaten vorgenommen, die für zwei Wochen gedeckt einheilten. Die Tiere wurden getötet und die entnommenen Blöcke für die histomorphometrischen Analysen aufbereitet.

Die Analysen ergaben, dass die PEG Gruppen tendenziell mit einem höheren Knochen-Implantat-Kontakt (BIC), verglichen mit den CM Gruppen, in Verbindung standen. Auch die Fläche der experimentellen Region (TA) zeigte sich in den PEG Gruppen vergrößert. Ein signifikanter Unterschied konnte bezogen auf die TA zwischen den Gruppen SBC+AB+PEG (10,4±5,8mm²) und SBC+AB+CM (7,8±4,3mm²) festgestellt werden.

Im Rahmen dieser Studie kann geschlussfolgert werden, dass alle untersuchten Augmentationsverfahren eine gesteuerte Knochenregeneration und Osseointegration von modSLA Titanimplantaten unterstützen, die Verwendung der PEG-Membran aber mit vermehrtem Knochenregenerat in Verbindung steht.

Abkürzungen

AB	Autogener Knochen
BIC	Knochen-Implantat-Kontakt
BMP	Knochenformende Proteine
BS	Rückständiges Knochenersatzmaterial
СМ	Kollagen Membran
DL	Defektlänge
ePTFE	expanded Polytetrafluorethylen Membran
GBR	Gesteuerte Geweberegeneration
modSLA	Sandgestrahlt, säuregeätzt und hydrophil
МТ	Mineralisierte Matrix
NBM	Bovines Knochenmineral
NMT	Nichtmineralisierte Matrix
PEG	Polyethylen-Glykol Membran
PLA	Polylaktid-Acid Membran
SBC	Biphasisches Kalziumphosphat
ТА	Experimentelle Region / ehemalige Defektfläche

Inhaltsverzeichnis

1EINLEITUNG	1
1.1 ÜBERSICHT	1
1.2 GESTEUERTE KNOCHENREGENERATION (GBR)	2
1.3 Membranen	3
1.3.1 Nichtresorbierbare Membranen.	4
1 3 2 RESORBIERBARE MEMBRANEN	5
1 3 2 1 Kollagenmembran (CM)	5
1.3.2.2 POLYLAKTID-ACID (PLA) -MEMBRAN	8
1.3.2.3 POLYETHYLEN-GLYKOL (PEG) -MEMBRAN	9
1.4 KNOCHENTRANSPLANTATIONSMATERIALIEN	12
1.4.1 Autogener Knochen	12
1 4 2 Knochenersatzmaterialien	13
1 5 OSSEGINTEGRATION IN NATIVEM KNOCHEN	15
1 6 FINZEITIGE UND ZWEIZEITIGE GBR	17
1.7 OSSEGINTEGRATION IN REGENERIERTEM KNOCHEN	18
1 8 Å PREITSHVØOTHESEN	20
	20
2 MATERIAL UND METHODE	22
2.1 DER HUND ALS TIERMODELL	22
2.2 I DER HOND ALS TERMODELE	23
2 3 STUDIENDESIGN UND RANDOMISIERUNG	23
2.5 STODENDESON OND RANDOMISERONO	24
2.1 Enhologisches Vokolneiten 7_{a} hnfytraktion	25
2 4 2 7 WEITE CHIRDROISCHE PHASE (DEEKTSETZUNG UND GBR)	25
2 4 3 DRITTE CHIRINGISCHE PHASE	30
2 5 TIERTÖTLING LIND PROBENGEWINNING	31
2.5 TEKTOTONG OND I ROBENGE WINNONG	32
2.7 HISTOLOGISCHE AUTBEREH UND HISTOMORPHOMETRISCHE ALISWERTUNGEN	34
2.7 HISTOLOGISCHE ANALYSEN UND HISTOMOKTHOMETRISCHE AUSWERTUNDEN	37
2.0 STATISTISCIE ANALTSEN	57
3 ERGEBNISSE	38
3.1 Klinische Ergebnisse	38
3.2 HISTOLOGISCHE ERGEBNISSE	39
3.3 ERGEBNISSE DER HISTOMORPHOMETRISCHEN ANALYSE	45
4 DISKUSSION	49
4.1 DISKUSSION VON MATERIAL UND METHODE	49
4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE	51
4.2.1 Einfluss der Membran und des Knochenersatzmaterials auf das Knochenregenerat	Г
	51
4.2.1.1 Einfluss der Membran auf das Knochenregenerat	51
4.2.1.2 EINFLUSS DES KNOCHENERSATZMATERIALS AUF DAS KNOCHENREGENERAT	54
4.2.2 EINFLUSS DER MEMBRAN UND DES KNOCHENERSATZMATERIALS AUF DIE OSSEOINTEGRATION	56
4.2.2.1 EINFLUSS DER MEMBRAN AUF DIE OSSEOINTEGRATION	57
4.2.2.2 EINFLUSS DES KNOCHENERSATZMATERIALS AUF DIE OSSEOINTEGRATION	57
4.3 DISKUSSION DER ARBEITSHYPOTHESEN	59
5 SCHLUSSFOLGERUNGEN	61
6 LITERATURVERZEICHNIS	62
7 ANHANG	70

1Einleitung

1.1 Übersicht

Implantate sind zu einem immer wichtigeren Teil bei der Wiederherstellung von Funktion und Ästhetik im zahnlosen Kiefer geworden. Obwohl langfristige Erfolgsraten zu einer wachsenden Akzeptanz von Zahnimplantaten führen, gibt es dennoch Umstände, in denen eine Implantatinsertion nicht die beste Option ist (Esposito et al. 2009). Ein suffizientes Kieferknochenvolumen ist nur eine der Anforderungen für das erfolgreiche Platzieren eines enossalen Implantates und dessen Osseointegration. Denn vertikale und horizontale Knochendefekte können in einer ungewollten Freilegung der Implantatoberfläche resultieren, Abnahme des Knochen-Implantat-Kontakts was zur und zu einem Implantatverlust führen kann (Simion et al. 1999). Ein horizontaler und / oder vertikaler Mangel an Knochenvolumen stellt den Hauptgrund für die Vermeidung einer Implantatversorgung dar (Esposito et al. 2009). Infektionen, Traumata, Parodontitis oder Zahnverluste verursachen oft eine weniger günstige anatomische Grundlage für eine optimale Implantatinsertion. In diesen Fällen ist eine Rekonstruktion des Alveolarknochens und des Weichgewebes durch regenerative Operationsmethoden nötig, um eine funktionell und ästhetisch erfolgreiche implantatgetragene Versorgung zu gewährleisten (Mc Allister et al. 2007; Holst et al. 2005).

1.2 Gesteuerte Knochenregeneration (GBR)

Eine dieser Operationsmethoden ist die gesteuerte Knochenregeneration (GBR). Sie ist ein etabliertes und gut dokumentiertes Verfahren (Artzi et al. 2010). Sie wird für die Knochenbildung an Knochendefekten (Seibert et al. 1990), zur Erweiterung des Kieferkamms vor Implantatinsertionen (Dahlin et al. 1990), zur Verbesserung der Knochenbildung an freigelegten Implantatgewinden (Dahlin et al. 1989) und für in frische Extraktionsalveolen platzierte Implantate (Warrer et al. 1991) genutzt. Der Erfolg des Verfahrens ist bereits in einigen Publikationen dokumentiert worden (Zitzman et al. 1997; Hammerle et al. 2008; Zitzman et al. 2001).

Die GBR ist ein operatives Verfahren, welches auf die Platzierung einer zellokklusiven physikalischen Barriere zwischen dem Bindegewebe und dem Alveolarknochendefekt basiert (Buser et al. 1993). Als Barriere dient eine Membran, die einen geschlossenen Raum, den Defekt umgebend, aufrechterhalten kann (Dahlin et al. 1988). Die Notwendigkeit der zusätzlichen Verwendung von Füll- bzw. Stützmaterialien hängt von der Größe und Form des Defektes ab. Bislang konnten folgende Prozesse der GBR zugeschrieben werden:

Im Gewebe besitzen verschiedene zelluläre Komponenten unterschiedliche Migrationsraten während der Wundheilung. Bei einer mechanischen Behinderung, wie dem Nutzen einer Membran, werden Fibroblasten und andere Weichgewebszellen vom Knochendefekt zurückgehalten, sodass langsammigrierende Zellen mit Osteogenesepotential ungestört einwandern können (Dahlin et al. 1986). Durch das GBR-Prozedere wird zugleich das iatrogen induzierte Blutgerinnsel geschützt (Dahlin et al. 1988). Über die Blutgefäße können perivaskuläre Zellen, welche für die Differenzierung von neuen Knochenzellen notwendig sind, transportiert werden (Imbronito et al. 2002) und so die Knochenregeneration induzieren (Dahlin et al. 1988).

Nach einer Studie von Dahlin wurde gezeigt, dass bei einem zirkulären Defekt nach drei Wochen eine komplette Knochenregeneration stattgefunden hat, wenn mittels einer Membran das Einwachsen von Weichgewebe verhindert werden konnte. In der Kontrollgruppe, in der die Membran nicht zum Einsatz kam, war die Defektstelle auch nach 22 Wochen nicht ossifiziert (Dahlin et al. 1986).

1.3 Membranen

Als Barrieremembran bezeichnet man eine dünne Materialschicht, die zwei Räume voneinander abgrenzt. Folgende fünf Eigenschaften sollten für die Barrieremembran zutreffen: Sie sollte über eine Gewebeintegration, Barrierefunktion, einfache Handhabung, Volumenstabilität und Biokompatibilität verfügen (Scantlebury 1993).

- Gewebeintegration: Das Gewebe soll in die poröse Außenfläche der Membran einwachsen, sie jedoch nicht penetrieren.
- Barrierefunktion: Die Membran ist f
 ür epitheliale Zellen zell-okklusiv, f
 ür N
 ährstoffe jedoch durchl
 ässig.

- 3.) Handhabung: Die Membranen müssen in geeigneten Standardformen verfügbar sein. Nach Applikation dürfen keine scharfen Kanten resultieren
- Volumenstabilität: Die Membran muss ein Volumen aufrechterhalten.
 Eine ausreichende Steifigkeit verhindert hierbei ein Kollabieren der Membran in den Knochendefekt unter dem Druck des Weichgewebes.
- 5.) Biokompatibilität: Immunologische Reaktionen müssen durch entsprechende industrielle Aufbereitung der Membran ausgeschlossen werden (Scantlebury 1993)

Bei Barrieremembranen unterscheidet man grundsätzlich zwischen nichtresorbierbaren und resorbierbaren Membranen.

1.3.1 Nichtresorbierbare Membranen

Ein Beispiel für nichtresorbierbare Membranen ist die anfänglich und erfolgreich genutzte *expanded polytetrafluoroethylen membrane* (e-PTFE), die zum Standardmaterial in der GBR wurde (Dahlin et al. 1991; Davarpanah et al. 1991; Nevins et al. 1992). Nichtresorbierbare Membranen haben eine hohe Vorhersagbarkeit in Bezug auf die Knochenregeneration, sofern keine Weichteilprobleme während der Wundheilung auftreten (Buser et al. 1996; Zitzmann et al. 1999; Machtei et al. 2001). Eine ungewollte Membranfreilegung kann jedoch in einer bakteriellen Kontamination und einem frühen Entfernen der Membran resultieren, was eine Resorption des neugebildeten Knochens zur Folge haben könnte (Lekholm et al. 1993). Imbronito veranschaulichte in einer Studie, dass es bei zwei von vier getesteten e-PTFE Membranen zu einer ungewollten Membranfreilegung kam und in diesen Arealen inflammatorische Reaktionen beobachtet wurden (Imbronito et al. 2002). Dieser Vorgang wurde bereits in einer weiteren Studie, bei der die Membran in einem Affenversuch verwendet wurde, notiert (Warrer et al. 1991). Gemäß Machtei beeinflusst diese Membranexposition den Betrag der Knochenregeneration negativ (Machtei et al. 2001).

Neben dem Nachteil der Membranexposition benötigt man zur Entfernung der nichtresorbierbaren Membranen einen zweiten chirurgischen Eingriff. Dies stellt wiederum in ästhetisch wichtigen Arealen einen kritischen Punkt bezüglich der Weichgewebsdeformation dar (Van der Zee et al. 2004; Nobuto et al. 2005).

1.3.2 Resorbierbare Membranen

Der Nachteil der Weichgewebsdeformation kann bei Nutzung resorbierbarer Membranen vermieden werden. Vor diesem Hintergrund wurden in Tier- und Humanstudien, für die GBR-Therapie, Kollagenmembranen (Mundell et al. 1993), *Polylactid-Acid* Membranen (Warrer et al. 1992) bzw. deren Polyglykolsäure oder Co-Polymere (Mayfield et al. 1997) getestet (Gottlow et al. 1994; Laurell et al. 1994). Für die GBR Technik sind resorbierbare Membranen zu einer sehr guten Alternative geworden und haben weitestgehend die nichtresorbierbaren Materialien, wie das e-PTFE, in ihrer Verwendung verdrängt (Rothamel et al. 2005).

1.3.2.1 Kollagenmembran (CM)

Bezüglich der CM steht heutzutage das bovine und porkine native Kollagen Typ I und III im Fokus der meisten Untersuchungen und ist bislang als Standardmembran anzusehen (Rothamel et al. 2005; Schwarz et al. 2006, 2008a). Die in Einheitsgröße produzierte CM wird mittels Schere an die Defektgröße adaptiert und durch resorbierbare Pins fixiert. So kann eine Mobilisation der Membran vermieden werden (Jung et al. 2009). Das unvernetzte native Kollagen spielt eine aktive Rolle bei der Koagelbildung, wirkt chemotaktisch auf desmodontale und gingivale Fibroblasten und ist selbst eine Hauptkomponente des parodontalen Bindegewebes (Postlethwaite et al. 1978; Yaffe et al. 1984; Hutmacher et al. 1996; Locci et al. 1997). Charakteristisch für die CM ist eine ausgeprägte Gewebeintegration und Semipermeabilität. Diese erleichtern den Nährstofftransport während der ersten Zeit der Wundheilung (Rothamel et al. 2005; Schwarz et al. 2006, 2008a). Ein potentieller Minuspunkt des nativen Kollagens ist die schnelle Biodegradation. Zum Einen verursacht durch eine frühzeitige transmembranöse Vaskularisierung der Membran (Schwarz et al. 2008b) und zum Anderen durch die enzymatische Aktivität von Makrophagen und polymorphonukleären Leukozyten. Ein Einwachsen und Sprossen von Blutgefäßen in die äußeren, mittleren und inneren Schichten einer CM ist bereits nach einer Woche erkennbar (Herten et al. 2008). Dieser frühe Prozess der Degeneration führt zur Reduktion des Membranwiderstandes, folglich zu einem Kollaps. sodass eine Volumenstabilität nicht mehr gewährleistet werden kann (Tatakis et al. 1999).

Um die Biodegradation hinauszuzögern, wurden verschiedene membranvernetzende Techniken, wie ultraviolettes Licht, Glutaraldehyde, Diphenylphosphorylazide oder Hexamethylendiisocyanate genutzt (Kodame et al. 1989; Minabe et al. 1989; Quteish et al 1992; Brunel et al. 1996; Zahedi et al. 1998; Bunyaratavej et al. 2001). Bisherige Ergebnisse von Tierstudien zeigten, dass der Abbau der vernetzten Membranen deutlich langsamer war als bei nicht vernetzten Membranen (Pitaru et al. 1988; Paul et al. 1992). Auch wurde in einer kürzlich durchgeführten *in vitro* Studie deutlich, dass sowohl native als auch kreuzvernetzte bovine und porkine Kollagenmembranen des Typs I und III eine begrenzte Anhaftung und Proliferation von menschlichen desmodontalen Fibroblasten und menschlichen SaOs-2 Osteoblasten, verglichen mit Zellkolonien auf der Kulturschale, verursachten. Darüber hinaus inhibierten kreuzvernetzte Membranen mit Glutaraldehyd die Anhaftung und Proliferation von beiden Zelltypen gänzlich (Rothamel et al. 2004).

Neben diesen zunächst positiv erscheinenden Eigenschaften der kreuzvernetzten Kollagenmembranen wurde in einer weiteren Studie deutlich, dass sie einige Nachteile mit sich führen. Bio-Gide[®](Geistlich Bio-Gide[®]) als natives Kollagen und diverse kreuzvernetzte Kollagenmembranen wurden auf den biologischen Abbau auf Zeit, auf die Vaskularisation, auf die Gewebsintegration und auf die Fremdkörperreaktion getestet. Diese Untersuchungen führten zu dem Schluss, dass kreuzvernetztes bovines oder porkines Kollagen Typ I und Typ III zwar mit einer verlängerten biologischen Abbauzeit, aber auch mit einer verringerten Gewebeintegration und Vaskularisation einherging. In den Fällen der Nutzung von chemischkreuzvernetzten Kollagenmembranen kam es sogar zu Fremdkörperreaktionen (Rothamel et al. 2005). Trotz der negativen Eigenschaften wurde in einer kürzlich durchgeführten Studie deutlich, dass, solange eine ungewollte Membranexposition unterbleibt, bestimmte kreuzvernetzte Membranen gleiche Ergebnisse bezüglich der Unterstützung der Knochenregeneration wie natives

Kollagen zeigen. Bei Membranexposition führten die kreuzvernetzten CM jedoch zur Beeinträchtigung der Wundheilung (Becker et al. 2009).

Neben den CM und deren kreuzvernetzten Derivaten nehmen heutzutage synthetisch hergestellte Membranen wie *Polylaktid-Acid* (PLA) Membranen, Polyethylen-Glykol (PEG) Membranen und andere einen hohen Stellenwert in der Forschung ein. Dadurch dass die CM tierischen Ursprungs ist, können bei Verwendung einige Schwierigkeiten bezüglich der Patientenakzeptanz und der Immunantwort auftreten. Zudem kann eine infektiöse Übertragung nie ausgeschlossen werden (Jung et al. 2010). Diese Problemstellung wird beim Einsatz von synthetisch hergestellten Membranen umgangen.

1.3.2.2 Polylaktid-Acid (PLA) -Membran

Synthetisch resorbierbare Membranen, bestehend aus PLA und laktid / glykolid Copolymeren, wurden in den späten 80er-Jahren entwickelt und fanden seitdem Anwendung in verschiedenen tierischen und klinischen Studien (Fleisher et al. 1988; Magnusson et al. 1988; Gottlow et al. 1994). Aufgelöst in N-methyl-2-pyrollid (NMP) (Atrisorb®) wird die synthetische Membran in einer flüssigen Konsistenz individuell am Patienten appliziert. Dadurch unterbleiben das zeitaufwendige Beschneiden und die unkomfortable Handhabung, wie es bei vorrausgegangenen Barrieremembranen der Fall war. Diese Membran zeigt eine gute Gewebeintegration, Biokompatibilität und die Förderung von Knochenregeneration in Defektarealen (Coonts et al. 1998). Einer Studie von Imbronito zufolge setzt der biologische Abbau der PLA-Membran nach ca. 2 Monaten ein. Nach 4 Monaten scheint die Membran fast vollständig resorbiert zu sein (Imbronito et al. 2002). Auch in 3 weiteren Studien konnte demonstriert werden, dass die Makrostruktur der Membran innerhalb der ersten 6 Wochen nicht abgebaut war (Gottlow et al. 1994; Gottlow et al. 1993; Piatelli et al. 1998) und der Abbau erst nach diesen 6 Wochen langsam einsetzte (Lundgren et al. 1994). Es scheint also, dass die PLA-Membran die benötigte mechanische Stabilität für den Zeitraum der Knochenregeneration aufweist (Gopferich et al. 1996).

Ein Nachteil der Membran ist, dass der Abbau über eine Fremdkörperreaktion erfolgt. Diese wird durch kleine Polymerpartikel, die sich vom Material lösen, hervorgerufen (Piatelli et al. 1998). Entsprechend dieser Reaktion wurden in PLA-Membran Proben Makrophagen und mehrkernige Riesenzellen nachgewiesen (Imbronito et al. 2002). Würde es hierbei zu einer entzündlichen Reaktion des Gewebes auf die Membran kommen, wäre es unmöglich, bei bereits einsetzendem Zerfall, diese komplett zu entfernen (Mayfield et al. 1997).

1.3.2.3 Polyethylen-Glykol (PEG) -Membran

Kürzlich wurde ein neues Material, ein gelartiges Hydrogel, zusammengesetzt aus 2 Polyethylen-Glykol (PEG) Molekülen als Barrieremembran genutzt (Jung et al. 2006). Wie auch bei der PLA-Membran ist die PEG-Membran in ihrer Form nicht vorgefertigt, wie es beispielsweise bei der CM der Fall ist. Sie kann ohne Pins individuell am Patienten aufgetragen werden. Nach dem Mischen wird das PEG als eine visköse Flüssigkeit appliziert und geliert bei Anwendung vor Ort innerhalb von 20 bis 50 Sekunden (Wechsler et al. 2007; Herten et al. 2009). Durch diese Vernetzungsreaktion, die schnell und selektiv bei einem physiologischen pH- und Temperatur-Wert abläuft, entsteht ein Netzwerk aus hydrolysierbaren Esterbindungen (Elbert et al. 2001). Es konnte demonstriert werden, dass das PEG-Gel aufgrund der kleinen Distanzen zwischen kreuzvernetzten Messpunkten im Molekül nach dem Gelierungsprozess bereits zelloklussiv ist (Wechsler et al. 2008). Dem entspricht eine analytische Auswertung einer histologischen Studie, in der deutlich wurde, dass die zelluläre Infiltration durch die PEG-Membran für mindestens 4 Wochen, verglichen mit Fibrinschwämmen, kleiner als 1% war.

Zudem ist das PEG-Material hoch biokompatibel, was durch Verwendung in anderen medizinischen Fachbereichen, wie beispielsweise als Spraymembran für die laparoskopische Chirurgie, in klinischen Studien gezeigt werden konnte (Vaage et al. 1997; Mettler et al. 2003). Ferner wurde demonstriert, dass das PEG-Material sicher, gut verträglich und ohne Nebenwirkungen war und ohne Ausnahme bei jedem Patiententyp angewendet werden konnte (Jung et al. 2009).

Während der Wundheilung werden die vernetzten PEG-Verbindungen durch Hydrolyse abgebaut. So wird die Produktion von sauren Stoffen oder von Fremdkörperreaktionen in benachbarten Geweben vermieden (Wechsler et al. 2007; Herten et al. 2009). Die hydrolytische Spaltung von PEG-Proben ist mit dem Einwachsen von Blutgefäßen nach vier Wochen assoziiert und führt so zu einer verlängerten Biodegradation von 16 bis 24 Wochen. Dies hat Herten ebenfalls in einer Studie nach subkutaner Implantation in Ratten nachgewiesen (Herten et al. 2009). Letztendlich konnte durch experimentelle Studien belegt werden, dass die PEG-Membran ähnliche Beträge neugebildeten Knochens in ehemaligen Defektregionen beim Vergleich andere Barrieremembranen zeigt (Jung et al. 2006, 2009a; Thoma et al. 2009; Schwarz et al. 2010). Beim Vergleich der PEG Membran mit dem derzeitigen Goldstandard können bereits erläuterte Eigenschaften gegenübergestellt werden (Tabelle 1).

	Kollagenmembran	Polyethylenglykolmembran
Barrierefunktion	+	+
Biokompatibilität	+/-	+
Gewebeintegration	+	-
Volumenstabilität	+	++
Formbarkeit	+	++

Tabelle 1: Kollagen- vs. Polyethylenglykolmembran

Aufgrund der hohen Zellokklusivität, die sich in der Barrierefunktion wiederspiegelt, weist die PEG Membran eine verminderte Gewebeintegration auf (Jung et al. 2009). Dies stellt jedoch den einzigen Minuspunkt im Vergleich zur CM dar. Durch die verlängerte Biodegradation, kann die PEG Membran vielmehr eine längere Volumenstabilität gewährleisten. Zudem entfällt bei ihrer Applikation das aufwendige Beschneiden, stattdessen ist sie durch die Gelkonsistenz gut formbar.

Wie eingangs dargestellt, ist es nicht möglich alle Defekttypen allein mit einer Membran zu regenerieren. Ausgedehnte Defekte benötigen letztendlich eine Kombination aus resorbierbaren Membranen und Autotransplante bzw. Knochenersatzmaterialen. Mit Hilfe der Füllmaterialien kann so eine ausreichende Volumenstabilität generiert werden (Esposito et al. 2006; Chiapasco &Zaniboni et al. 2009).

1.4 Knochentransplantationsmaterialien

Knochentransplantationsmaterialien werden grob in autogene Knochen und Knochenersatzmaterialien unterschieden.

1.4.1 Autogener Knochen

Die gewünschten Eigenschaften von Knochentransplantationsmaterialien sind die Osteokonduktion, Osteogenese und Osteoinduktion. Einzig allein autogener Knochen vereint alle drei geforderten Eigenschaften in sich und ist auch weiterhin als Goldstandard in der Knochentransplantation anzusehen (Tabelle 2).

	Osteokonduktion	Osteogenese	Osteoinduktion
Autogen	+	+	+
Allogen	+	-	+*
Xenogen	+	-	+*
Alloplastisch	+	-	-
*materialabhängig			(Glass et al. 2008)

Tabelle 2: Eigenschaften der Knochentransplantationsmaterialien

Ein osteokonduktives Transplantat ermöglicht als Leitschiene die Einsprossung von Gefäßzellen und mesenchymalen Zellen zur Neubildung von Knochen im Augmentat (T. Kao et al. 2007). Dieser Vorgang ist nur bei Materialien möglich, die eine geeignete Oberflächenstruktur, Biokompatibilität, Porösität und geeignete chemische Faktoren besitzen. Unter Osteogenese versteht Kao die Knochenneubildung aus Knochenvorläuferzellen, den Osteoprogentitorzellen, die im Transplantat vorhanden sind, die proliferieren und zu Osteoblasten differenzieren (T. Kao et al. 2007).

Der Prozess der Osteoinduktion beinhaltet die Stimulation und Rekrutierung von undifferenzierten mesenchymalen Stammzellen in das Transplantat. Die Rekrutierung läuft über eine Signalkaskade durch *bone morphogenetic proteins* (BMP), die zur Familie der transformierenden Wachstumsfaktoren zählen und in der Matrix des Transplantates vorhanden sind (T. Kao et al. 2007).

Potentielle Minuspunkte bei der Verwendung eines autogenen Knochentransplantates sind postoperative Komplikationen an der Spenderregion, unvorhersehbare Resorptionen, eine limitierte Verfügbarkeit und die Notwendigkeit eines zusätzlichen chirurgischen Eingriffs. Diese Nachteile machen die Verwendung von Knochenersatzmaterialien interessant.

1.4.2 Knochenersatzmaterialien

Knochenersatzmaterialen können in drei Kategorien eingeteilt werden.

- 1.) Allogene Materialien,
- 2.) Xenogene Materialien und
- 3.) Alloplastische Materialien (Storgard Jensen et al. 2009).

Allogenes Ersatzmaterial stammt aus der menschlichen Spezies und ist im Gegensatz zu autogenem Knochen genetisch verschieden. Die Augmentate werden als frischer, gefrorener, gefriergetrockneter oder mineralisierter Knochen angeboten. Die Eigenschaften des allogenen Knochens werden durch die Verarbeitung beeinflusst. Frischer bzw. gefrorener menschlicher Knochen besitzt das höchste osteokonduktive und osteoinduktive Potenzial (vergl. Tabelle 2.), kommt aber aufgrund des erhöhten Infektionsrisikos und der verstärkten Immunantwort des Empfängers reduziert zur Anwendung. Mineralisierter, gefriergetrockneter Knochen besitzt osteokonduktive, allerdings keine osteoinduktiven Eigenschaften.

Xenogenes Knochenersatzmaterial stammt von anderen Spezies. Das am häufigsten angewendete xenogene Augmentationsmaterial ist Rinderknochen als deproteinisierter, mineralischer Bestandteil (Bio-Oss®, Geistlich Biomaterals, Schweiz). Nach Entfernung der organischen Bestandteile entsteht eine aus Kalziumverbindungen bestehende Knochenstruktur, die dem menschlichen spongiösen Knochen entspricht. Bio-Oss® bietet aufgrund der porigen Struktur eine große Oberfläche zur Osteokonduktion (vergl. Tabelle 2.).

Ein alloplastisches synthetisches Knochenersatzmaterial bzw. sollte biokompatibel sein und ausschließlich minimale Gewebereaktionen beim Empfänger verursachen. Kalziumphosphate (Trikalziumphosphate und Hydroxylapatite) zählen zu den Vertretern dieser Gruppe. Sie besitzen eine hohe Biokompatibilität bei osseointegrativem Potenzial unter Ausbildung von Hydroxylapatit an der Oberfläche (T. Kao et al. 2007). Bone Ceramic® (Straumann), bestehend aus Trikalziumphoshat und Hydroxalapatit, weist eine hohe mechanische Stabilität des Augmentats auf, wofür die langsame Resoprtion des Hydroxalapatits verantwortlich ist. Es ist zu 90% porös und besitzt miteinander verbundene Poren von 100-500µm Durchmesser. Diese starke Porosität bietet beste Voraussetzungen für die Vaskularisierung, Osteoblastenmigration und Knochenanlagerung (Bone Ceramic® Straumann).

Vergleicht man die im Text und der Tabelle 2 aufgeführten Vor- und Nachteile der Knochentransplantationsmaterialien, wird plausibel, dass es sinnvoll ist, autogene Knochen mit Knochenersatzmaterial zu kombinieren. Man verlangsamt die Resorption des Transplantates und behält die Eigenschaften der Osteogenese, Osteoinduktion und Osteokonduktion bei.

1.5 Osseointegration in nativem Knochen

Die Osseointegration wurde ursprünglich von Branemark als der direkte strukturelle und funktionelle Verbund zwischen lebendem Knochen und der Oberfläche eines belasteten Implantats definiert (Branemark et al. 1977). Sie ist abhängig von der Stabilität des Implantats im Knochen, die sich in 2 Phasen unterteilen lässt. Der Primär- und Sekundärstabilität.

Direkt auf die Insertion folgend wird der Halt des Implantates durch seine Primärstabilität bestimmt. Diese ist rein mechanisch bedingt und entsteht durch Klemmpassung des Implantats im Knochen, durch dessen Verdrängung und / oder Verdichtung in der unmittelbaren Umgebung (Lietz et al. 2007). Auch die makromorphologische Retention, welche durch das Gewinde bedingt ist, spielt dabei eine Rolle. Die Primärstabilität eines Implantates ist von Faktoren wie Insertionsbedingungen, Knochenqualität und Schaftdesign abhängig (Wilmes et al. 2006).

Nach der Einheilphase, in der neben den typischen Wundheilungsphasen auch ein Knochenumbau stattfindet, spricht man von der Sekundärstabilität. Der Knochen hat sich über eine labile Zwischenstufe als Geflechtknochen zu fibrösem und lamellarem Knochen umstrukturiert. Durch seine Qualität und die Quantität der Anlagerung wird die Sekundärstabilität beeinflusst (Lietz et al. 2007).

Grundlage einer erfolgreichen Osseointegration ist ein ausreichender Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) oder allgemein ein Implantat-Zell-Kontakt ohne Einlagerung von nicht knöcherner bzw. bindegewebiger Strukturen (Branemark et al. 1969; Albrektson et al. 1983). Ein osseointegriertes Implantat ist in der Lage, alle von außen eingehenden Kräfte auf den Knochen zu übertragen. Knochen, Implantatlager und Implantat bilden eine mechanische Einheit (Branemark et al.1969). Zu erkennen ist ein osseointegriertes Implantat am Fehlen lytischer Prozesse im Röntgenbild und der Abwesenheit von Weichteilgewebe zwischen mineralisierten Knochen und dem größten Teil der Implantatoberfläche im histologischen Schnitt (Khang et al. 2001). Kasemo gibt als Minimum einen BIC von 35% als ausreichend für den Erfolg eines Implantates an (Kasemo et al. 1983).

Bereits in einigen Studien wurden Implantate in neugebildeten Knochen inseriert und mit der Implantatinsertion in natürlichem Knochen verglichen (Buser et al. 2002). Implantate, die in regenerierte Knochen inseriert wurden, erreichten eine erfolgreiche Osseointegration und ordnungsgemäße Funktion über einen Zeitraum von fünf Jahren (Buser et al. 1996; Fugazzotto 1997; Corrente et al. 2000; Blanco et al. 2005; Juodzbalys et al. 2007; Dahlin et al 2009).

1.6 Einzeitige und zweizeitige GBR

Lokale Knochendefekte sind eine bei Implantatpatienten häufige klinische Situation. Der Kliniker hat hierbei die Wahl, den GBR-Eingriff entweder simultan oder zweizeitig durchzuführen. Bei der simultanen oder einzeitigen GBR wird innerhalb eines chirurgischen Eingriffs das Implantat platziert, die Defektstelle augmentiert und der Bereich mit einer Membran abgedeckt. Bei der zweizeitigen GBR erfolgt zunächst eine horizontale Alveolarkammaugmentation. Später wird bei einem Zweiteingriff das Implantat gesetzt. Das Behandlungsziel ist eine erfolgreiche Knochenregeneration unter möglichst wenigen chirurgischen Eingriffen, geringer Patientenmorbidität und verkürzter Heilungsphase. Deshalb ist einer Implantatinsertion mit simultaner GBR-Technik, wann immer möglich, den Vorzug zu geben, um die Anzahl der chirurgischen Eingriffe auf nur eine Operation mit offenem Lappen zu reduzieren (Buser et al. 2009).

Laut Buser (2009) müssen folgende Kriterien bei der simultanen Technik gegeben sein:

- 1.) Das Implantat muss in einer aus funktioneller und ästhetischer Sicht korrekten dreidimensionalen Position eingesetzt werden.
- Für diese spezifische Position muss eine primäre Implantatstabilität gewährleistet sein.
- 3.) Die Morphologie des periimplantären Knochendefekts muss eine zuverlässige Knochenregeneration im Defektbereich ermöglichen.

Handelt es sich beispielsweise um einen überschaubaren zweiwandigen Defekt, ist von einer regelrechten Knochenregeneration bei einzeitiger GBR auszugehen. Innerhalb weniger Wochen schließt sich der Defekt, da die angiogenen und osteogenen Zellen aus den Markhölen der angrenzenden Knochenwände nur eine kurze Entfernung überwinden müssen (Abb. 1).



Abb. 1: Darstellung der Defektefektmorphologie

Im Gegensatz dazu ist die Defektmorphologie einwandiger Defekte weitaus anspruchsvoller. Derartige Defekte finden sich oft in abgeheilten Alveolarfortsätzen oder nach traumatischem Zahnverlust. Die Breite des Alveolarkamms ist oft vermindert, sodass die Implantatoberfläche über den Kamm hinausragt und eine breite, flache Defektmorphologie entsteht. In solchen Defekten müssen die angiogenen und osteogenen Zellen weitaus größere Distanzen überbrücken. Folglich ist die Gefahr eines unzureichenden Regenerationsergebnisses erhöht. Bei einer Kammbreite von weniger als 4mm wird deshalb ein zweizeitiges Vorgehen empfohlen (Buser et al. 2009).

1.7 Osseointegration in regeneriertem Knochen

In einer Studie von Artzi wurde histologisch die Osseointegration im nativen Knochen gegen die Osseointegration in regeneriertem Knochen verglichen. Bei vierwandigen Defekten wurde ein einzeitiges GBR-Verfahren, eine Implantatplatzierung unmittelbar nach Zahnextraktion, ein zweizeitiges GBR-Verfahren und die Implantatplatzierung in einem natürlich ausgeheilten Defekt untersucht. Augmentiert respektive gedeckt bovinem wurde mit Knochenmineral und einer Kollagenmembran. Nach acht Monaten konnten folgende BIC Werte verzeichnet werden. Beim einzeitigen GBR-Verfahren ergab sich ein BIC von 62%, bei Implantatplatzierung nach Zahnextraktion 73%, beim zweizeitigen GBR-Verfahren 75% und bei Implantatplatzierung in einem natürlich ausgeheilten Defekt 76%. Acht Wochen nach Implantatplatzierung zeigte sich die geringste Osseointegration nach einzeitiger GBR. Nach 16 Monaten jedoch war der Betrag der Osseointegration in allen vier Gruppen annähernd gleich (75-79%) (Artzi et al. 2010). Sowohl das einzeitige als auch das zweizeitige GBR-Verfahren führten bei einem vierwandigen Defekt zu einem hohen Grad an Osseointegration (Artzi et al. 2010).

Der genaue Einfluss auf die periimplanterischen Parameter sowie der initiale Prozess der Osseointegration bleiben dabei bislang jedoch unerforscht.

1.8 Arbeitshypothesen

Wie im Kapitel 1.3.2.3 bereits vorgestellt wurde, verfügt die PEG Membran im Gegensatz zur CM über eine verbesserte Volumenstabilität, was durch die verzögerte Biodegradation bedingt ist (Herten et al. 2009). Bei einer einzeitigen GBR bzw. kleineren Defekten konnte bisher nicht demonstriert werden, dass die verbesserte Volumenstabilität der PEG Membran zu erhöhtem Knochenregenerat und erhöhten BIC-Werten führt. Die PEG Membran und die CM erreichten jeweils in Kombination mit autogenem Knochen (AB), bovinem natürlichem Knochenmineral (NBM) oder bisphasischem Kalziumphosphat (SBC) vergleichbare Werte (Jung et al 2009a; Jung et al. 2009b; Schwarz et al. 2010).

Wie sich jedoch die Eigenschaften der PEG Membran auf ein zweizeitiges GBR-Verfahren auswirken, bleiben unbeschrieben. Es ist anzunehmen, dass die Volumenstabilität bei größeren Defekten an Bedeutung zunimmt. Daher kann man spekulieren, dass diese spezifische physikalisch-chemische Eigenschaft der PEG Membran die Knochenregeneration in großen Defekten verbessert.

Vor dem Hintergrund der oben aufgeführten Spekulationen kommen folgende Arbeitshypothesen zustande:

1.) Die Qualität des Knochenregenerates in einem standardisierten klinischen Defektmodell wird vorwiegend durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften eines Knochenersatzmaterials beeinflusst, die Quantität durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Barrieremembran. 2.) Die Qualität und Quantität des Knochenregenerates haben einen maßgeblichen Einfluss auf die frühe Osseointegration von Titanimplantaten.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war daher die Bewertung der histologischen Ergebnisse einer zweizeitigen GBR bei Verwendung einer PEG Membran in Kombination mit NBM+AB oder SBC+AB und bei Verwendung einer CM in Kombination mit NBM+AB oder SBC+AB mit anschließender Implantatplatzierung in sattelförmigen Defekten im Hundemodell.

2 Material und Methode

2.1 Der Hund als Tiermodell

Hinsichtlich der verschiedenen Tierarten, ist der Hund das am häufigsten genutzte Tiermodell in Studien, die sich mit der Weichgewebsintegration und der Implantatplatzierung sowohl im natürlichen Knochen als auch kompromittierten Knochen beschäftigen (Berglundh et al. 2012).

Dies ist aus anatomischer, jedoch vor allem aus versuchstechnischer Sicht zu begründen. Der *Foxhound* ist ein Jagdhund, der als Meutehund die Gesellschaft anderer Hunde gewöhnt ist. Den Menschen gegenüber ist er freundlich und kaum aggressiv (Anderson et al. 1970; Fogle et al. 1999; Latimer & Reingold et al. 1998).

Die Kiefergröße, das heterodonte Gebiss mit verschiedenen Zahnarten, der Zahnaufbau, die Zahnform sowie das einem Zahnwechsel unterliegende Gebiss (Bieniek et al. 1993; Nickel et al. 1992), machen den Hund aus anatomischer Sicht zu einem dem menschlichen stomatognathen System vergleichbaren Tiermodell. Auch die orale Mikroflora des Hundes ähnelt der des Menschen (Giannobile et al.1994; Rayan et al. 1991). Ein weiterer Vorteil des Hundes als Tiermodell für die Zahnheilkunde ist seine weite Fangöffnung. Der maximal geöffnete Fang hat beim Hund einen Winkel von 60-70° (Vollmerhaus et al. 1996). Dadurch sind die Mundhöhle und die Zähne für operative Eingriffe gut zugänglich. Zudem ist die geläufige Anästhesiepraxis ein Vorteil. Es kann auf bekannte und erfolgreich durchgeführte Narkosetechniken bei operativen Eingriffen zurückgegriffen werden, was das Narkoserisiko minimiert.

Neben der Abweichung der Mundhygiene gegenüber dem Menschen (Giannobile et al. 1994; Saxe et al. 1967) ist der Aufbau des Kieferknochens beim Hund nicht mit dem Aufbau des menschlichen Kieferknochens zu vergleichen. Der Hund verfügt über einen dichten kompakten Knochen. Dies sollte bei operativen Eingriffen wie Extraktionen oder Implantatsetzungen berücksichtigt werden.

Zahnformel des Hundes: (Habermehl, 1995):

Im Milchzahngebiss: i 3/3, c1/1, p3/3 = 28 Milchzähne. Im bleibenden Gebiss: I3/3, C1/1, P4/4, M 2/3 = 42 bleibende Zähne.

2.2 In der Studie verwendete Hunde

Im Rahmen dieser Studie wurden sechs *Foxhounds*, im Alter von 18-22 Monaten und einem Gewicht von 34-42 kg eingesetzt. Alle Hunde zeigten eine vollständig ausgebildete permanente Dentition. Während des Experimentes wurden die Hunde einmal pro Tag mit weicher Nahrung und Wasser gefüttert. Die Tierauswahl, die Haltung und das chirurgische Vorgehen wurden durch den Tierschutz, den Nutzungsauschuss der Heinrich-Heine-Universität und dem Landesamt für Natur und Verbraucherschutz (LANUV) Recklinghausen geprüft und genehmigt (Aktenzeichen: 8.87-50.10.37.09.230). Die Durchführung der experimentellen Versuchsreihe erfolgte durch routinierte Chirurgen nach einer Adaptionszeit von vier Wochen.

2.3 Studiendesign und Randomisierung

Die Studie wurde in drei Phasen durchgeführt. In der ersten Phase wurde die Extraktion der Unterkiefer und Oberkiefer ersten, zweiten, dritten und vierten Prämolaren und der ersten und zweiten Molaren durchgeführt. Nach einer Heilungsphase von zehn Wochen wurden insgesamt vier standardisierte Satteltyp-Defekte beidseitig im Oberkiefer gesetzt. Diese hatten eine mesiodistale Ausdehnung von 10mm und eine Tiefe von 8mm. Die Defekte wurden mittels zufälliger Zuordnung mit NBM+AB oder SBC+AB gefüllt. Anschließend erfolgte die zufällige Zuteilung der PEG oder Kollagen Membranen. Die Randomisierung erfolgte durch eine vom Computer generierte Liste (RandList®, DatInf GmbH, Tübingen, Germany).

Entsprechend dieser Zuteilungen standen sich zwei Behandlungsverfahren gegenüber:

NBM+AB+PEG und SBC+AB+PEG vs. NBM+AB+CM und SBC+AB+CM.

Nach acht Wochen erfolgte die Insertion von Titanimplantaten des Typs modSLA in die zuvor behandelten Defektstellen im Oberkiefer. Pro Hund wurden jeweils vier Implantate inseriert und man ließ sie für zwei Wochen geschlossen einheilen.

2.4 Chirurgisches Vorgehen

Vor jedem chirurgischen Eingriff wurde eine intramuskuläre Sedierung durchgeführt. Hierfür wurde 0,17mg/kg Acepromazin (Vetranquil %, Ceva

Tiergesundheit, Düsseldorf, Deutschland) verwendet. Anschließend wurde die Narkose mit 21,5mg/kg Thiopental-Sodium (Trapanal 2.5%, Altana GmbH, Konstanz, Deutschland) eingeleitet. Die Intubationsnarkose, die während allen chirurgischen Eingriffen gegeben wurde, setzte sich aus Sauerstoff, Lachgas und Isofluranen zusammen.

Um eine Hydratation während der Narkose zu gewährleisten, wurden allen Tieren eine konstante Rate an Ringer-Lactat Infusion verabreicht. Als intraoperatives Schmerzmittel wurden 0,4mg/kg Piritramid als intravenöse Injektion (Dipidolor®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und 4,5mg/kg Carprofene (Rimadyl®, Pfitzer Pharma GmBH, Karlsruhe, Deutschland) gegeben. Für die postoperative Schmerzbehandlung wurden ebenfalls Piritramid und Carprofene in der oben genannten Dosierung für drei Tage verabreicht.

2.4.1 Erste chirurgische Phase / Zahnextraktion

In der ersten Operation wurden im Oberkiefer sowie im Unterkiefer beidseitig Mukoperiostlappen gebildet und nach Separation die Prämolaren und Molaren (P1-M2) vorsichtig extrahiert. Die Wundstellen wurden mit einer Matrazennaht versorgt und es schloss sich eine Heilungsphase von zehn Wochen an. Prophylaktisch wurde intraoperativ als auch postoperativ für zehn Tage Clindamycin verabreicht (11,0mg/kg KG, Cleorobe®, Pharmacia Tiergesundheit, Erlangen, Deutschland).

2.4.2 Zweite chirurgische Phase (Defektsetzung und GBR)

Nach einer Heilungszeit von etwa drei Monaten wurden nach mittiger Inzision des Oberkieferkammes Mukoperiostlappen gebildet, um den Alveolarknochen freizulegen. Vertikale Entlastungsschnitte wurden in einem Abstand von 4-5mm zur experimentellen Region gesetzt. Beidseitig wurden mittels eines Hartmetallbohrers vier standardisierte Satteltyp-Defekte, einschließlich der vestibulären und der oralen Wand des Alveolarkammknochens, präpariert. Es wurde eine Distanz von jeweils 5mm zwischen den Defekten eingehalten. Nach der Knochenblockentnahme zeigten letztendlich alle Satteltyp-Defekte eine mesio-distale Defektbreite von 10mm und eine apikal-koronale Tiefe von 8mm (Abb.2a). Die Defektgrößen wurden standardgemäß mittels einer Parodontalsonde gemessen (PCP12, HU-Friedly Co., Chicago, Illinois, USA). Alle Osteotomien wurden mit Wasserkühlung durch 0,9% physiologische Kochsalzlösung durchgeführt. Zusätzlich wurden alle Defekte mit steriler Lösung gründlich gespült, um eventuelle Knochenspäne zu entfernen.



Abb. 2a: Zehn Wochen nach Zahnextraktion wurden vier standardisierte Satteltyp-Defekte (Breite: 10mm; Höhe: 8mm) bilateral im Oberkiefer von sechs Hunden gesetzt. Dabei wurde jeweils eine Distanz von 5mm zwischen den Defekten eingehalten. Nach okklusaler Sicht erkennt man, dass die vestibuläre und orale Knochenlamelle komplett entfernt wurde

Anschließend wurden die Defekte gleichmäßig entweder mit NBM Partikeln (Geistlich BioOss® spongiosa granules, particle size 0.25-1mm, Geistlich Biomaterials, Wolhusen, Switzerland) oder mit SBC (60% HA+ 40% β-TCP, Bone Ceramic®, Porendurchmesser: 100-500µm, Straumann Institut Straumann AG) gefüllt. Besondere Sorgfalt wurde darauf gelegt, dass die Transplantatpartikel nicht die Ränder der angrenzenden Knochenwände sowohl in vestibulär-oraler als auch in kranialer Richtung überschreiten. Vor der Applikation der Knochenersatzmaterialien wurden diese gleichmäßig mit 0,5-1mm großen autogenen Knochenpartikeln 1:1 gemischt, die zuvor aus der Spongiosa der Knochenblöcke gewonnen wurden. Im Folgenden wurde auf einer Kieferseite eine CM (Geistlich BioGide®, Geistlich Biomaterials) so über die Defektregion appliziert, dass diese 1-2mm über den Defektrand hinausragte. Es wurden weder Nähte noch Pins für die Fixation und Stabilisierung gesetzt (Abb. 2b.).


Abb. 2b: Die Defekte einer Kieferseite wurden mit der Kollagenmembran bedeckt. Sie wurde so adaptiert, dass sie den Defekt um 1-2mm überdeckt.

Auf der kontralateralen Seite wurde zunächst das entstandene Blutkoagel entfernt und daraufhin eine PEG Hydrogelmembran (MembraGel®, Institute Straumann AG, Basel, Switzerland) appliziert. In ihrer viskösen Form wurde sie ebenfalls so appliziert, dass sie 1-2mm über den Defektrand hinausragte und vor Ort nach 60 Sekunden gelierte (Jung et al. 2009a) (Abb. 2c).



Abb. 2c: Auch auf der kontralateralen Seite wurden die Defekte homogen mit NBM+AB bzw. SBC+AB in einem 1:1 Verhältnis gefüllt. Nach Entfernen der Blutgerinnsel wurden die experimentellen Stellen mit der PEG Hydrogelmembran bedeckt. Die PEG Applikation der anterioren Bereiche ist in dieser Abbildung nicht dargestellt.

Im Folgenden wurden die Mukoperiostlappen nach Periostschlitzung spannungsfrei reponiert und mit vertikalen und horizontalen Matrazennähten (Resorba®, Nürnberg, Germany) fixiert. So konnte eine gedeckte Einheilung gewährleistet werden (Abb 2d).



Abb. 2d: Die experimentellen Stellen heilten für acht Wochen gedeckt ein.

2.4.3 Dritte chirurgische Phase

Im Rahmen der dritten chirurgischen Phase wurde nach acht Wochen die Implantatsetzung vorgenommen. Es wurde eine Schnittführung mittig des Alveolarkammes gewählt und Mukoperiostlappen zur Darstellung der experimentellen Stellen gebildet. Das Granulationsgewebe wurde vorsichtig aus den ehemaligen Defektstellen entfernt. Insgesamt wurden vier Regionen beidseitig für die Implantatsetzung unter dauerhafter Wasserkühlung mit 0,9% physiologischer Kochsalzlösung (surgery protocol by Institute Straumann AG, Basel, Switzerland) mit dem Ziel einer möglichst atraumatischen Operationstechnik präpariert. Es folgte die Implantatsetzung mittels modSLA (Bone Level® SLActive®, O 4.1mm, length 10mm, Institute Straumann AG) Titan-Schrauben-Implantaten. Die Implantate wurden so gesetzt, dass sie eine gute Primärstabilität aufweisen (i.e. lack of clinical implant mobility) und dass die Implantatschultern sowohl vestibulär als auch oral auf Niveau des regenerierten Knochenkamms abschliessen (Abb. 2e). Nach Applikation der Verschlussschrauben wurde im Sinne einer gedeckten Heilung der Mukoperiostlappen mit vertikalen horizontalen reponiert und und Matrazennähten (Resorba®, Nuernberg, Germany) fixiert.



Abb. 2e: Nach Wiederaufklappen des OP Gebiets zeigten sich die Defektgrenzen klar durch die Partikel der rückständigen Knochenersatzmaterialen abgegrenzt. Die Implantate wurden im Zentrum der ehemaligen Defekte platziert, so dass die Implantatschulter sowohl vestibulär als auch oral auf Niveau des regenerierten Knochenkamms zum Erliegen kam. (Links: NBM+AB+CM; Rechts: SBC+AB+CM).

2.5 Tiertötung und Probengewinnung

Nach einer Heilungsperiode von 8+2 Wochen wurden die Hunde durch eine Überdosis an 3% Sodium-Pentobarbital getötet. Das orale Gewebe wurde fixiert, indem 10% gepuffertes Formalin durch beide internen Karotisarterien verabreicht wurde. Die Kiefer wurden resektiert, um Knochenblöcke mit den experimentielle Stellen zu erhalten. Alle Proben wurden mittels 10% neutral gepufferter Formalinlösung für 4-7 Tage fixiert.

2.6 Die histologische Aufbereitung

Für die Herstellung von nicht-entkalkten Hartgewebsschnitten wurden die Proben vorerst dehydriert. Dabei wurden die Proben in Alkohollösungen eingelegt, die im Abstand von einer Woche durch 70, 80, 90, 95 und 99,5% Alkohllösung ausgetauscht wurden. Anschließend erfolgte die Einlage der Proben in Xylol über einen Zeitraum von einer Woche. Die Proben wurden mit Methacrylat-Monomer (Technovit 9100 NEU, Heraeus Kulzer, Werheim, Germany) infiltriert und in Methylmethacrylaten (MMA, Technovit 9100 NEU, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) eingebettet. Zur Einbettung wurden speziell angefertigte, zylindrische und luftdichte Formkörper aus Kunststoff verwendet. Während dieser Prozedur wurden mögliche negative Einflüsse durch die Polymerisationswärme vermieden, indem eine kontrollierte Polymerisation unter Kühlung bei -4°Celsius stattfand. Nach 20 Stunden waren die Proben komplett polymerisiert. Jede Knochenblockprobe wurde mittels einer diamantierten Bandsäge (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt, Germany) in Richtung entsprechend der Längsachse der bukko-oraler Implantate geschnitten. Es wurden Schnittserien ausgehend von der zentralen Defektregion hergestellt, sodass vier Abschnitte mit einer ungefähren Dicke von jeweils 300µm entstanden (Donath et al. 1985). Es wurden nur die Implantatschnitte, auf denen ein Gewinde zu erkennen war, für die histologische Auswertung ausgewählt. Anschließend wurden alle Proben mit Acrylzement (Technovit 7210 VLC, Heraeus Kulzer, Werheim, Germany) auf silanisierte Glasträger (Super Frost, Menzel GmbH, Braunschweig, Germany) geklebt. Mittels eines Tellerschleifgerätes (Exakt®, Apparatebau, Norderstedt) mit Schleifpapier aufsteigender Körnungsart (320 bis 1000) wurden sie bis zu

einer endgültigen Dicke von ungefähr 40µm reduziert. Anschließend wurde jeder Schnitt mit Schleifpapier der Körnung 4000 poliert. Für die histomorphometrische Analyse wurden die Schnitte gefärbt.

Die Färbung der Schnitte fiel auf Toluidin-Blau, um den Anteil der neuen Knochenbildung bewerten zu können. Mit dieser Technik färbt sich älterer Knochen hellblau an, wogegen neugebildeter Knochen, wegen des höheren Proteingehalts, dunkelblau erscheint (Schenk et al. 1984).

Im Rahmen der Toluidin-Blau Färbung kam folgendes Protokoll zur Anwendung:

- 10 min. Bad in 10 % Wasserstoffperoxid-Lösung
- Abspülen mit kaltem Leitungswasser
- 30 sek. Bad in 4% Ameisensäure-Lösung
- Abspülen mit kaltem Leitungswasser
- 7 min. Bad in Kiel-Toluidin-Blau-Lösung
- Abspülen mit kaltem Leitungswasser
- 7 min. Bad in Donath-Lösung
- Abspülen mit kaltem Leitungswasser
- 30 min. Lufttrocknung und Abdeckung mit Eukitt.

2.7 Histologische Analysen und histomorphometrische Auswertungen

Mein Eigenanteil an der hier vorliegenden Studie war die deskriptive histologische Analyse, die histomorphometrische Auswertung von DL, BIC und TA sowie die Kalibrierung der automatisierten Berechnung von NMT und MT innerhalb TA. Als blinder Auswerter wurden mir die spezifischen Hintergrundinformationen vorenthalten. Für die Bildaufnahme wurde eine CCD Farbkamera (Color View III, Olympus, Hamburg, Germany) auf ein binokuläres Lichtmikroskop (Olympus BX50, Olympus, Hamburg, Germany) montiert. Die digital erstellten Bilder wurden in 200-facher Vergrößerung mit Hilfe eines Software Programms (Cell D®, Soft Imaging System, Muenster, Germany) ausgewertet. Vor dem Start der histomorphometrischen Analyse wurde die Kalibrierung des Software Programms vorgenommen. Es wurden wiederholte 12 verschiedenen Messungen an Schnitten bis zu einer Messwertübereinstimmung von über 95% durchgeführt.

Folgende Parameter wurden sowohl vestibulär als auch oral identifiziert:

- IS Implantatschulter
- BD Boden des ehemaligen Knochendefekts
- BIC Knochen-Implantat-Kontakt
- TA Experimentelle Region / ehemalige Defektfläche
- MT Mineralisierte Matrix
- NMT Nicht mineralisierte Matrix
- BS NBM / SBC Partikel

Anhand dieser Parameter konnte die reine Defektlänge vom Boden des ehemaligen Knochendefekts bis zur Implantatschulter bestimmt werden. Die gemessene Defektlänge entlang der Implantatwindungen in mm wurde gleich 100% gesetzt und diente als Referenz für die prozentuale Bestimmung des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC) entlang dieser Linie (Abb.3a). Der BIC errechnete sich aus der Summe aller Teilbereiche, an denen die Implantatfläche in direkter Verbindung zu Knochen stand.



Abb. 3a: Von BD (Boden des ehemaligen Defekts) ausgehend wurde, zur Berechnung der Defektläne, entlang der Implantatwindungen eine Linie bis zur IS (Implantschulter) gezogen. Ansicht in 25-facher Vergrößerung.



Abb. 3b: Neben der reinen Defektlänge (BD-IS) wurde die ehemalige Defektfläche (TA), von BD bis IS in mm² gemessen und gleich 100% gesetzt. Ansicht in 25-facher Vergrößerung.

Auch TA wurde jeweils manuell eingezeichnet. Die Grenzbereiche ergaben sich aus DL, aus dem Übergang ältere Knochensubstanz zu neuer Knochensubstanz sowie aus dem Übergang Augmentat zu Weichgewebe. Innerhalb der TA wurde sowohl der Flächenanteil in mm² von mineralisierter (MT) und nicht-mineralisierter (NMT) Matrix als auch die rückständigen NBMbzw. SBC-Partikel (BS) automatisiert durch die Cell-D®-Software bestimmt (Abb.3c).



Abb. 3c: Die weißen Bereiche stellen nichtmineralisierte Matrix (NMT) dar, wogegen mineralisierte Matrix (MT) im histologischen Schnitt blau erscheint; Ansicht in 25-facher Vergrößerung.

2.8 Statistische Analysen

Die statistische Analyse erfolgte mittels einer kommerziell verfügbaren Software (PASW Statistics 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Mittelwerte und Standardabweichungen des BIC, TA, MT, NMT und BS wurden für jede Gruppe bei jedem Hund berechnet. Der Datensatz wurde mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests für die Normalverteilung untersucht. Innerhalb jeder Gruppe wurden Vergleiche durch den gepaarten t-Test sowohl vestibulär als auch oral angestellt. Für den Vergleich zwischen den Gruppen nach 8+2 Wochen wurde der unpaarige t-Test verwendet. Der alpha Fehler (Fehler erster Art) wurde bei 0,05 angesetzt. (Siehe Gruppenstatistik im Tabellenverzeichnis).

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Ergebnisse

Die postoperative Heilungsphase verlief bei allen Hunden ohne besondere Vorkommnisse. Während des gesamten Versuchablaufs konnten keine Komplikationen, wie allergische Reaktionen, Schwellungen, Medikamentenunverträglichkeiten, Abszesse oder Infektionen beobachtet werden. Die Defektseiten zeigten weder eine vorzeitige Implantat- noch Membran-Exposition. Nach 8 Wochen konnte gezeigt werden, dass das Volumen der behandelten Defektregionen in allen untersuchten Gruppen in vollem Umfang erhalten blieb, was in einer homogenen vestibulären und oralen Knochenkontur resultierte. Sowohl die NBM als auch die SBC Partikel schienen sehr gut in das neugebildete Hartgewebe integriert zu sein (Abb. 2f).



Abb. 2f: Eine Kortikalisation des neugebildeten Knochens konnte vor allem bei der mit der PEG Membran behandelten Defektseite beobachtet werden. (Links: SBC+AB+PEG; Rechts: NBM+AB+PEG).

3.2 Histologische Ergebnisse

Die histologischen Beobachtungen zeigten nach 8+2 Wochen eine Knochenfülle in der ehemaligen Defektregion, welche durch die CM- als auch durch die PEG- Membranen begrenzt war. Im Detail wurde ein Gerüst aus Knochenspongiosa mit zahlreichen Blutgefäßen und knochenformenden Zellen deutlich, die im direkten Kontakt zu NBM bzw. SBC und zu rückständigen AB Partikeln standen. Die Umwandlung von spongiösem zu kortikalem Knochen konnte im Allgemeinen in den Randbereichen der ehemaligen Defektregionen verzeichnet werden(Abb. 4a-d).



Abb. 4a: Defektdeckung mit NBM+AB+CM.

Histologische Ansicht der Wundheilung nach 8+2 Wochen. (Vestibulär-orale Schnitte; Färbung: Toluidin Blau; Ansicht in 25-facher Vergrößerung). Die histologischen Beobachtungen zeigten eine homogene Knochenformation und Osseointegration innerhalb des ehemaligen Defekts. Das Defektvolumen wurde sowohl durch die PEG- als auch durch die CM- Barrieremembran aufrecht erhalten. Eine Kortikalisation der Knochenspongiosa wurde vor allem in den peripheren Bereichen sichtbar. (BD = Boden des Knochendefekts; TA = experimentelle Region / ehemalige Defektfläche; IS = Implantatschulter).



Abb. 4b: Defektdeckung mit SBC+AB+CM

(BD = Boden des Knochendefekts; IS = Implantatschulter; Ansicht in 25-facher Vergrößerung.)



Abb. 4c: Defektdeckung mit NBM+AB+PEG

(BD = Boden des Knochendefekts; IS = Implantatschulter; Ansicht in 25-facher Vergrößerung.)



Abb. 4d: Defektdeckung mit SBC+AB+PEG

(BD = Boden des Knochendefekts; IS = Implantatschulter ;Ansicht in 25-facher Vergrößerung.).

In Abb. 4a und 4b erkennt man, dass bei Deckung mit der CM rückständige Partikel, mineralisierte Matrix und neugebildeter Knochen nicht mehr bis zur Implantatschulter reichen. Oberhalb der ersten Implantatwindung fehlt der direkte Knochen-Implantat-Kontakt.

In Abb. 4c und 4d wird deutlich, dass bei Deckung mit der PEG Membran mineralisierte Matrix, rückständige Partikel und neugebildeter Knochen bis über die Implantatschulter hinausragten. Ein Knochen-Implantat-Kontakt war auch oberhalb der ersten Windung erkennbar.

Weiterhin zeigte die histologische Beobachtung, dass SBC Partikel in näherem Kontakt zu NMT standen, wohingegen NBM Partikel eher von MT umgeben waren (Abb. 4a-c). Eine Osteoklastenaktivität an der Oberfläche beider Knochentransplantatpartikel konnte durch die histologische Begutachtung nicht nachgewiesen werden. Was jedoch festgestellt werden konnte, war die Auflösung der SBC Partikel. Dies zeigte sich in einem Oberflächenzerfall von Partikel in einzelne Körner, häufig in Regionen beobachtet werden konnte, die was WO Knochentransplantatpartikel von NMT umgeben waren (Abb. 4d). In allen untersuchten Gruppen schien es, dass die modSLA Implantate von einem dicht angelagerten, parallel-faserigen Geflechtknochen umgeben waren. Gelegentlich war ein direkter Kontakt zwischen Implantatoberfläche und NBM bzw. SBC Partikeln erkennbar. Was in diesen Arealen fehlte, besonders im Bereich zwischen Implantatoberfläche und rückständigen Knochentransplantatpartikeln, war nichtmineralisierte Matrix (Abb. 5a und 5c). Anhand der Entwicklung der primären Osteone konnte Rückschluss auf die Reife des Geflechtknochens gezogen werden, wobei man feststellte, dass der Geflechtknochen vergleichbar in beiden regenerierten, ehemaligen Defektregionen war (Abb. 5a-c).

NBM-, SBC- und rückständige AB-Partikel sind homogen in einem dichten Netzwerk aus spongiösem Knochen integriert. Die Applikation der PEG Membran scheint im Zusammenhang mit einer höheren Dichte an MT innerhalb der TA zustehen (Abb. 5a-c).



Abb. 5a: Defektdeckung mit SBC+AB+PEG; Ausschnitt in 100-facher Vergrößerung. Der schwarze Bereich im linken Bildteil stellt das Gewinde des Implantatkörpers dar. Man erkennt, dass dicht an die Oberfläche des Implantates ein blaues Band an mineralisierter Matrix angelagert ist. Auch die rückständigen AB-Partikel, gekennzeichnet durch gelbe Polygone, sind von blau angefärbten Bereichen, der mineralisierten Matrix, umgeben. Im Bereich mineralisierter Matrix stellten sich Osteone dar. Des Weiteren wird deutlich, dass rückständige SBC-Partikel (im

histologischen Bild grau mit schwarzer Umrandung) vorwiegend von nicht mineralisierter Matrix umgeben sind.



Abb. 5b: Defektdeckung mit SBC+AB+CM; Ausschnitt in 100-facher Vergrößerung. Im histologischen Bild, bei Deckung mit einer Kollagenmembran, scheint der Anteil an nicht mineralisierter Matrix größer zu sein. Auch rückständige AB-Partikel sind zum Teil von weißlichen Bereichen, der nichtmineralisierten Matrix, umgeben. Der Abstand des Implantatgewindes zur nichtmineralisierten Matrix ist deutlich geringer als bei der Defektdeckung mit einer PEG Membran.

Seite |44



Abb. 5c: Defektdeckung mit NBM+AB+PEG; Ausschnitt in 100-facher Vergrößerung.Im Gegensatz zu SBC-Partikeln, waren die NBM-Partikel häufiger von mineralisierter Matrix umgeben.



Abb. 5d: Defektdeckung mit SBC+AB+PEG; Ausschnitt in 200-facher Vergrößerung. In dieser Vergrößerung konnte die Struktur der SBC-Partikel besonders gut beurteilt werden. Die SBC-Partikel wiesen im histologischen Bild eine schwarze Umrandung auf. An einigen Stellen war diese unterbrochen, was für eine Auflösung der SBC Partikel sprach.

3.3 Ergebnisse der histomorphometrischen Analyse

Die Mittelwerte von DL, TA, MT, NMT, BS und BIC, gemessen nach 8+2 Wochen Wundheilung in beiden Gruppen können den folgenden drei Tabellen entnommen werden (Tabelle 3-5).

Tabelle 3: Mittelwerte (\pm SD) von DL (in mm), TA, MT, NMT, BS (in mm²) und BIC (in%) der CM Gruppe unter Einbezug der vestibulären und oralen Komponente nach 8+2 Wochen gedeckter Heilung (n = 6 Hunde).

	<u>Gruppe</u>	<u>Seite</u>	<u>DL</u>	<u>TA</u>	<u>MT</u>	<u>NMT</u>	<u>BS</u>	BIC	
	NBM+AB	vestibulär	5.0±1.8	10.2±4.8	5.3±3.9	4.1±1.5	0.9±0.4	61.8±26.5	
		oral	5.2±2.5	9.1±5.3	4.1±2.2	4.2±3.0	0.9±0.6	80.8±6.8	
			n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	
	SBC+AB	vestibulär	3.7±0.6	6.8±2.9	3.9±2.4	2.4±0.9	0.5±0.4	72.4±10.2	
		oral	5.5±3.0	8.7±3.7	3.7±1.3	3.4±2.8	1.5±0.7	72.4±27.2	
			n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	<0.05	n.s.**	
	*Vergleich inn	erhalb der Gru	ppen (gepa	aarter t-test): P>0.05				
	** P Wert								
DL: Defektlänge				NMT: Nicht mineralisierte Matrix					
TA: Ehemalige Defektregion				BS: Rückständiges Knochenersatzmaterial					
MT: Mineralisierte Matrix			BIC: Knochen-Implantat Kontakt						

Es wird deutlich, dass innerhalb des Gruppenvergleichs der CM Gruppe, vergleichbare Mittelwerte für DL, TA, MT, NMT und BIC sowohl für NBM+AB behandelte als auch für SBC+AB behandelte Areale erhoben werden konnten. Ein signifikanter Unterschied konnte für den BS Wert ermittelt werden, wenn die vestibuläre gegen die orale Seite verglichen wurde (siehe Tabelle 3: p<0,05). Der Betrag an rückständigem Knochenersatzmaterial stellte sich für die orale Seite vergrößert dar. Dieser Unterschied konnte nur in der SBC+AB+CM Gruppe nachgewiesen werden. Feinere Unterschiede stellten sich bezogen auf die Beträge der ehemaligen Defektregion (TA) dar. Bei Betrachtung der vestibulären Seite erreichte die NBM+AB+CM Gruppe einen TA-Wert von 10,2±4,8 mm² wohingegen die SBC+AB+CM Gruppe einen TA-Wert von 6,8±2,9mm² verzeichnete. Da der Betrag an TA der NBM+AB+CM Gruppe im direkten Zusammenhang zum Betrag an mineralisierter Matrix (MT) und nichtmineralisierter Matrix (NMT) steht, stellten sich diese Werte in der NBM+AB+CM Gruppe ebenfalls vergrößert dar. Der Knochen-Implantat-Kontakt lag sowohl in der NBM+AB+CM Gruppe als auch in der SBC+AB+CM Gruppe bei ungefähr 70 %.

Tabelle 4: Mittelwerte (\pm SD) von DL (in mm), TA, MT, NMT, BS (in mm²) und BIC (in%) der PEG Gruppe unter Einbezug der vestibulären und oralen Komponente nach 8+2 Wochen gedeckter Heilung (n = 6 Hunde).

<u>Gruppe</u>	<u>Seite</u>	DL	<u>TA</u>	MT	<u>NMT</u>	<u>BS</u>	BIC	
NBM+AB	vestibulär	5.5±0.8	12.8±4.2	6.1±2.6	5.8±2.6	0.9±0.4	85.7±23.9	
	oral	3.9±0.7	7.9±6.5	4.7±3.9	2.3±1.9	0.9±0.8	87.0±17.7	
		<0.01**	n.s.**	n.s.**	<0.05**	n.s.**	n.s.**	
SBC+AB	vestibulär	6.8±1.9	10.5±2.6	4.9±2.2	4.5±2.2	1.1±0.5	83.9±16.4	
	oral	5.2±1.1	10.2±2.5	5.4±1.7	4.0±1.7	0.8±0.7	76.4±26.7	
		n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	
*Vergleich inn	erhalb der Gru	ppen (gep	aarter t-Test): P>0.05				
** P Wert								
DL: Defektlänge			NMT: Nicht mineralisierte Matrix					
TA: Ehemalige Defektregion			BS: Rückständiges Knochenersatzmaterial					
MT: Mineralisierte Matrix			BIC: Knochen-Implantat Kontakt					

Ähnlich der Analyse der CM Gruppe wurden die PEG Gruppen verglichen. Die Mittelwerte von DL, TA, MT, NMT und BIC wurden erhoben und schienen auch unter Einbezug der vestibulären und oralen Komponente vergleichbar. Innerhalb dieses Gruppenvergleiches konnte lediglich in der NBM+AB+PEG Gruppe ein signifikanter Unterschied zwischen den DL und NMT Werten verzeichnet werden (siehe Tabelle 4: p<0,01; p<0,05). So zeigte die vestibuläre Seite insgesamt vergrößerte Werte für die oben genannten Messungen. Der Knochen-Implantat-Kontakt lag sowohl bei NBM+AB+PEG als auch bei SBC+AB+PEG bei ca. 80%.

Tabelle 5: Vergleich der Mittelwerte (± SD) von DL (mm), TA, MT, NMT, BS (in mm²) und BIC (in %) zwischen der CM und der PEG Gruppe nach 8+2 Wochen gedeckter Heilung (n= 6 Hunde).

<u>Membran</u>		DL	<u>TA</u>	MT	<u>NMT</u>	<u>BS</u>	BIC
СМ	NBM+AB	5.1±2.1	9.7±4.8	4.7±3.0	4.1±2.2	0.9±0.5	71.3±20.8
	SBC+AB	4.7±2.4	7.8±3.4*	3.9±1.7	2.9±2.2	1.0±0.8	72.4±20.3
PEG	NBM+AB	4.7±1.1	10.4±5.8	5.4±3.3	4.1±2.8	0.9±0.6	86.4±20.1
	SBC+AB	5.0±1.7	10.4±2.5*	5.2±1.9	4.3±1.9	0.9±0.6	80.1±21.5
		n.s.**	<0.05**	n.s.**	n.s.**	n.s.**	n.s.**
*Vergleich zwi	schen den Me	mbranen (ungepaarter	t-Test)			
** P Wert							
DL: Defektläng	NMT: Nicht mineralisierte Matrix						
TA: Ehemalige	BS: Rückständiges Knochenersatzmaterial						
MT: Mineralisi	BIC: Knochen-Implantat Kontakt						

Beim direkten Vergleich zwischen den Membranen wird deutlich, dass die Gruppen um NBM+AB+PEG und SBC+AB+PEG tendenziell erhöhte TA, MT

und BIC Werte im Vergleich zu den CM Gruppen (Abb. 4a-4c) erreichten. So belief sich der BIC bei Verwendung von einer PEG Membran auf ca. 80%, bei Verwendung einer CM auf ca. 70%. Die TA Werte lagen bei der PEG-Gruppe um die 10,4mm² bei der CM-Gruppe zwischen 7,8mm² und 9,7mm². Der Betrag an MT wies bei der PEG-Gruppe Werte von über 5mm², bei der CM-Gruppe Werte unterhalb von 5mm² auf.

Die statistischen Analysen zeigten jedoch nur einen signifikanten Unterschied der TA Werte beim Vergleich zwischen den mit SBC+AB+CM und den mit SBC+AB+PEG versorgten Arealen (Siehe Tabelle 5: p<0,05, Vergleich Tabelle 11a-11c der Gruppenstatistik im Anhang).

4 Diskussion

4.1 Diskussion von Material und Methode

Gegenstand der vorliegenden Studie war die histologische Auswertung der Resultate nach einem zweizeitigen GBR-Prozedere im Hundemodell. Zur Anwendung kamen hierbei eine Kombination aus einer Polyethylenglykolmembran (PEG) bzw. einer Kollagenmembran (CM) entweder mit einem Gemisch aus autogenem Knochen und natürlichem Knochenmineral (AB+NBM) oder einem Gemisch aus autogenem Knochen und biphasischem Kalziumphosphat (AB+SBC). Nach Setzung von standardisierten Satteltyp-Defekten auf dem Kieferkamm wurden diese Bereiche mit den oben genannten Materialkombinationen augmentiert, respektive gedeckt. Anschließend wurde die Implantatinsertion vorgenommen. In diesem Zusammenhang sollte betont werden, dass der Typ von Defektmodell, mit dem auch in dieser Studie gearbeitet wurde, häufig genutzt und daher auch akzeptiert wird, um GBR Prozedere in Hundekiefern zu evaluieren (Schenk et al. 1994; Simion et al. 1999; Bornstein et al. 2007).

Das Augenmerk der Studie lag zum einen auf der qualitativen und quantitativen Auswertung des neugebildeten Knochenregenerates und zum anderen auf dessen Fähigkeit zur frühen Osseointegration von Titanimplantaten.

Ausgehend von diesen Zielsetzungen wurden mit Hilfe der Cell-D ®Computer-Software die histologischen Schnitte ausgewertet. Für jeden Schnitt wurden individuell die ehemalige Defektregion (TA) und die reine Defektlänge (DL) bestimmt. Die Defektlänge entlang der Implantatwindungen war Ausgangspunkt des zu bestimmenden Knochen-Implantat-Kontakts (BIC). Durch die Farbdetektierung konnte jeweils mineralisierte Matrix (MT), nichtmineralisierte Matrix (NMT), Knochen und rückständige Knochenersatzmaterialien (BS) auseinandergehalten werden. So ergaben sich Werte für MT, NMT und BS. Auch in vorherigen Studien wurde die Auswertung über das Cell-D®Programm erfolgreich genutzt, um eine genaue Abgrenzung der einzelnen Bestandteile in augmentierten Bereichen zu erhalten (Schwarz et al. 2007a).

Zu berücksichtigen gilt bei dieser Methode, dass das Erfassen der TA und DL individuell vom Betrachter geschieht. Bezogen auf die Defektgrenze als Ausgangspunkt der TA wurde bei der histologischen Betrachtung nicht immer ein klarer Defektboden deutlich. Obwohl bei der chirurgischen Phase standardisierte Defekte gesetzt wurden, zeigten sich im histologischen Präparat Unebenheiten auf dem Defektboden. Zum Erfassen der BIC wurden die einzelnen Implantatwindungen manuell mit einem Cursor nachgezogen. Diese Auswertungen erfolgten folglich nicht standardisiert. So könnten Abweichungen der BIC Werte auf den Auswerter zurückzuführen sein. Auch der direkte Zahlenvergleich zu anderen Studien ist diesbezüglich eingeschränkt.

Hierbei ist jedoch auch zu beachten, dass die Auswertungen von nur einem Betrachter durchgeführt wurden. Somit kommt es zu einer gleichbleibenden Fehlerquelle, die in die statistische Auswertung mit einbezogen werden kann.

Die MT-, NMT- und BS-Messwerte wurden durch die Farbdetektion der Software bestimmt. Auch hier kann zwar von keiner 100%-igen Genauigkeit der Auswertung gesprochen werden, nach der Kalibrierung konnte jedoch eine Messwertübereinstimmung von über 95% erreicht werden. Die Software war in der Lage, auch geringste Farbschwellen zu unterscheiden. NBM Partikel und mineralisierte Matrix zeigten sich beide nach Färbung im histologischen Bild dunkelblau. Dieser Farbschwellen-Unterschied wäre für das menschliche Auge kaum sichtbar, die Software erfasste jedoch zuverlässig alle Farbnuancen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Einfluss der Membran und des Knochenersatzmaterials auf das Knochenregenerat

Die von der Software erfassten Daten zeigten, dass es bei allen untersuchten Augmentationsverfahren letztendlich zu einer homogenen Knochenformation kam. Knapp 50% der ehemaligen Defektregion (TA) sind bereits nach 8+2 Wochen mineralisierter Matrix zuzurechnen.

4.2.1.1 Einfluss der Membran auf das Knochenregenerat

Innerhalb des Gruppenvergleichs jeweils für die CM und die PEG Membran konnte man annähernd vergleichbare TA Mittelwerte sowohl für die vestibuläre als auch für die orale Seite feststellen (Tabelle 3 u. 4). Das wiederum weist darauf hin, dass beide Barrieremembran-Typen dazu in der Lage sind, eine suffiziente Stabilisation der Defektregion über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg zu gewährleisten.

Die Kollagenmembran als Goldstandard ist bereits in vielen klinischen Studien beschrieben worden. Schon in vorausgegangenen experimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass NBM+AB+CM mit einer vorhersehbaren Knochenneubildung in Satteltyp-Defekten in Verbindung gebracht werden kann (Bornstein et al. 2007). Bornstein zeigte, dass insbesondere nach 8 und nach 16 Wochen gedeckter Heilung eine kuppelförmige Knochenregeneration ausgehend vom Boden des Defektes beobachtet werden konnte. Die TA Mittelwerte der Kontrollgruppe (NBM+AB ohne Membranapplikation) beliefen sich nach 8 Wochen auf 28.8mm². In der NBM+AB+CM Gruppe lag der TA Mittelwert bei 30.2mm² (errechnete Werte aus den zur Verfügung gestellten Daten der Publikation). In beiden Gruppen blieben die Werte über einen Zeitraum von 16 Wochen stabil (Bornstein et al. 2007).

Es ist darauf hinzuweisen, dass die insgesamt niedrigeren TA Werte in der hier vorliegenden Studie damit zu begründen sind, dass bei der histomorphometrischen Analyse die Implantatfläche nicht in der Auswertung berücksichtigt wurde.

Beim Vergleich der TA Mittelwerte der CM- und der PEG-Gruppen stellten sich für die PEG-Gruppe insgesamt erhöhte Werte dar. Bei der Augmentation von NBM+AB+PEG wird ein Mittelwert von 10,4±5,8mm² erreicht, bei NBM+AB+CM dagegen nur ein Wert von 9,7±4,8mm². Bei Betrachtung der Gruppen, in denen bisphasisches Calciumphosphat (SBC) verwendet wurde, wird die Diskrepanz statistisch bedeutsam (siehe Tabelle 5: p<0,05). Bei mit SBC+AB+PEG behandelten Defektstellen kann ein TA Mittelwert von 10,4±2,5mm² verzeichnet werden. Hingegen konnte in der SBC+AB+CM Gruppe lediglich ein Mittelwert von 7,8±3,4mm² erreicht werden (Tabelle 5). Diese Daten werden durch die histologischen Beobachtungen gestützt. Bei Deckung mit einer PEG Membran sich Knochenregenerat abschließend bis oberhalb zeigt das der

Implantatschulter (Abb. 4c und 4d). Im Gegensatz dazu erreicht dass Knochenregenerat nach CM Deckung nicht die Höhe der Implantatschulter, es kommt vielmehr in Höhe der ersten Implantatwindung zum Erliegen (Abb. 4a und 4b).

Zusammenfassend gesagt, konnten bei Verwendung einer CM keine verbesserten Ergebnisse nachgewiesen werden. Es scheint vielmehr, dass die PEG Membran eine verlängerte Barrierefunktion gewährleisten kann. Diese Eigenschaft der *in situ* gelierenden Hydrogelmembran wurde bereits in vorausgegangenen Studien angeführt. Herten zeigte in einer Studie an Ratten, dass es durch den hydrolytischen Spaltungsprozess zum Einwachsen von Blutgefäßen erst nach 4 Wochen kommt, was somit zu einer verlängerten Biodegradation von 16-24 Wochen führt (Herten et al. 2009). Im Gegensatz dazu zeigt Kollagen eine schnellere Biodegradation, verursacht durch die frühzeitige transmembranöse Vaskularisierung der Membran (Schwarz et al. 2008b).

Versuche die Biodegradation von Kollagen hinauszuzögern, zeigten sich durch die Verwendung chemischkreuzvernetzten erfolgreich von Kollagenderivaten. Es konnte verdeutlicht werden, dass diese mit einer verbesserten Membranstabilität einhergingen und zu einer verbesserten Knochenneubildung in Tier- und Human-Studien führten (Bornstein et al. 2007; Schwarz et al. 2008b; Becker et al. 2009). Im Fall einer frühzeitigen Membranexposition schnitten die chemisch-kreuzvernetzten Kollagenderivate jedoch deutlich schlechter ab. In diesem Fall kam es zu

Wundheilungsstörungen respektive zu Wundinfektionen (Bornstein et al. 2007; Becker et al. 2009).

Bereits in einigen Studien konnte beschrieben werden, dass die *in situ* gelierende PEG Membran sicher in sämtlichen Anwendungen war. Es kam zu keiner biologisch abnormalen Weichgewebsreaktion verglichen mit anderen Barrieremembranen (Jung et al. 2006, 2009a, 2009b, Thoma et al. 2009).

Auch in der vorliegenden Studie konnte beobachtet werden, dass es nach Applikation der CM- bzw. der PEG-Membran zu keiner Membranexposition kam.

Durch diese Beobachtungen bleibt fraglich, ob die Kollagenmembran weiterhin als Goldstandard anzusehen ist.

4.2.1.2 Einfluss des Knochenersatzmaterials auf das Knochenregenerat

Die histologischen Beobachtungen nach 8+2 Wochen zeigten, dass sowohl NBM+AB- und SBC+AB-Gerüste gleichmäßig und homogen in einem neuen Gerüst an Knochenspongiosa integriert waren.

Bislang konnten die osteokonduktiven Eigenschaften dieser beiden Knochenersatzmaterialen nur in menschlichen Sinusaugmentationen verglichen werden (Cordaro et al. 2008; Froum et al. 2008; Lindgren et al. 2010).

In Studien von Cordaro und Lindgren wurde beschrieben, dass es in mit SBC augmentierten Bereichen zu einem erhöhten Betrag an NMT um rückständige Knochentransplantatpartikeln kam, verglichen mit Bereichen in denen NBM verwendet worden ist (Cordaro et al. 2008; Lindgren et al. 2010).

Bei Betrachtung der histologischen Bilder in der vorliegenden Studie konnte analog zu den beschrieben Studien von Cordaro und Lindgren beobachtet werden, dass beide Knochenersatzmaterialien eine ähnliche histologische Erscheinung annahmen die SBC Partikel hingegen eher von NMT umgeben waren (siehe Abb. 5a).

Die Auswertungen der histomorphometrischen Daten konnten die beschriebenen Beobachtungen jedoch nicht stützen. Alle untersuchten Gruppen zeigten vergleichbare NMT Werte. Man könnte daher spekulieren, dass die osteoinduktiven und osteogenen Eigenschaften, die dem autogenen Knochen zugeschrieben werden (Chiriac et al. 2005), verantwortlich für die Abweichung zur Cordaro Studie sind. Die AB-Partikel könnten zu einem Anstieg an MT führen, was wiederum den Anteil an NMT-Werten in den SBC Gruppen senken würde.

Analog zu der hier vorliegenden Studie wurden NBM+PEG, SBC+PEG, NBM+CM und SBC+CM am Hundeunterkiefer getestet. Es konnte veranschaulicht werden, dass auch ohne Verwendung von AB kein statistisch bedeutsamer Unterschied beim Vergleich von SBC und NBM bezüglich des NMT-Wertes vorlag. Die histomorphometrischen Analysen ergaben vergleichbare NMT Werte sowohl in den NBM als auch SBC Gruppen. Bei NBM+CM lag der NMT Wert bei 3,4±2,5mm², bei SBC+CM bei 3,8±3mm² (Mihatovic et al 2011). Obwohl die histomorphometrischen Analysen nicht für erhöhte NMT Werte bei SBC Verwendung sprachen, zeigten die semiquantitativen Analysen erhöhte NMT Bereiche im direkten Kontakt zu SBC

Partikeln. Ferner waren diese Bereiche durch eine Auflösung der SBC Partikel gekennzeichnet (Mihatovic et al. 2011).

Die unterschiedlichen Resorptionsverhalten der Knochenersatzmaterialen und insbesondere die initiale Auflösung der SBC Partikel konnte auch in der hier vorliegenden Studie verzeichnet werden und deckt sich mit vorausgegangenen Studien.

Jensen konnte bei histologischer Betrachtung am Unterkiefer von Minischweinen eine Präsenz von mehrkernigen Riesenzellen an der Oberfläche der SBC Partikel nachweisen. Obwohl es dort keine Anzeichen für zellvermittelte Resorptionslakunen gab, zeigten diese Oberflächen eine stärkere Penetration durch die Färbelösung. Dies sprach für eine initiale Auflösung des Knochenersatzmaterials (Jensen et al. 2007).

Abschließend lässt sich festhalten, dass es in der hier vorliegenden Studie keinen statistisch bedeutsamen Unterschied der NMT Werte im Vergleich von SBC+AB zu NBM+AB gab. Bei histologischer Beobachtung, schienen die SBC-Partikel aber im direkten Kontakt zu NMT zu stehen (Abb. 4a-4c).

4.2.2 Einfluss der Membran und des Knochenersatzmaterials auf die Osseointegration

Nach histomorphometrischer Auswertung sprachen alle Werte für eine erfolgreiche Osseointegration der modSLA Implantate nach 8+2 Wochen. Der Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) nahm in allen Präparaten einen Wert über 70% an. Kasemo (1983) zufolge gilt ein BIC von 35% als ausreichend für den Erfolg eines Implantats. Als weiterer Faktor für ein erfolgreich osseointegriertes Implantat gilt die Abwesenheit von Weichteilgewebe zwischen mineralisiertem Knochen und dem größten Teil der Implantatoberfläche im histologischen Schnitt (Khang et al. 2001). In den histologischen Schnitten der hier vorliegenden Studie konnte ein annähernd durchgängiger Knochen-Implantat-Kontakt und folglich das Fehlen von Weichteilgewebe verzeichnet werden (vergl. Abb. 5a).

4.2.2.1 Einfluss der Membran auf die Osseointegration

Beim Vergleich der Membrangruppen bezüglich der BIC Werte konnte bei Verwendung der PEG Membran ein durchschnittlicher BIC Wert von ungefähr 80% nachgewiesen werden. Die CM Gruppe hingegen erreichte einen durchschnittlichen BIC Wert von ungefähr 70%. Obwohl die Diskrepanz der Werte keine statistische Größe annahm, ist festzuhalten, dass die PEG Membran mit einem erhöhten Knochen-Implantat-Kontakt in Verbindung stand.

Auch in der Studie von Mihatovic zeigte sich die Tendenz zu erhöhten BIC Werten bei PEG Deckung. Erreichten die NBM+CM und SBC+CM Gruppen nur einen BIC Wert von 54,1 \pm 22,6% und 61 \pm 8,7%, betrugen die BIC Werte bei NBM+PEG und SBC+PEG 67,7 \pm 16,9% und 66,9 \pm 17,8% (Mihatovic et al. 2011).

4.2.2.2 Einfluss des Knochenersatzmaterials auf die Osseointegration

Bezogen auf das Knochenersatzmaterial stellten sich bei SBC- und NBM-Verwendung vergleichbare BIC Werte dar. So ergab sich beispielsweise für die vestibuläre NBM+AB+PEG Gruppe ein durchschnittlicher BIC Wert von 85,7±23,9% und für die vestibuläre SBC+AB+PEG Gruppe ein durchschnittlicher BIC Wert von 83,9±16,4%. An dieser Stelle sollte das Resorptionsverhalten der NBM- und SBC-Partikel herangezogen werden. NBM-Partikel weisen fast keine initiale Resorption auf (Mordenfeld et al. 2010). Im Vergleich dazu kommt es bei SBC-Partikeln innerhalb von 8+2 Wochen zu einer initialen Auflösung. Es kann festgehalten werden, dass das unterschiedliche Resorptionsverhalten der beiden Knochenersatzmaterialien keinen Einfluss auf die BIC Werte nimmt.

Grundsätzlich wird deutlich, dass die errechneten BIC Werte in allen untersuchten Gruppen für eine erfolgreiche Osseointegration sprachen. Bezogen auf eine Studie im Hundeoberkiefer erreichten alle BIC Werte einen Bereich, der für die native Osseointegration von modSLA Titanimplantaten nach zwei Wochen beschrieben worden war. Diese Ergebnisse führen zu der Erkenntnis, dass sowohl natürlicher Knochen als auch mit NBM+AB und SBC+AB regenerierter Knochen eine frühe Osseointegration begünstigen (Schwarz et al. 2007a, 2007b). Diese Annahme kann durch eine kürzlich erfolgte experimentelle Studie gestützt werden. Artzi zeigte, dass bei Verwendung von doppel-säuregeätzten Titanimplantaten vergleichbare BIC Werte für natürlichen Knochen und NBM+AB behandelte Defekte auftraten (Artzi et al. 2010).

Man kann vermuten, dass die in der hier vorliegenden Studie vergleichbaren BIC-Werte, die sich für die zwei Knochenersatzmaterialien ergaben, auf die starke osteoinduktive und osteogene Eigenschaft des autogenen Knochens zurückzuführen sind. In der von Mihatovic durchgeführten Studie wurden NBM+CM, SBC+CM, NBM+PEG und SBV+PEG ohne AB am Hundeunterkiefer getestet. Für NBM+CM ergab sich hierbei ein BIC von 54,1±22,6%, für SBC+CM ein BIC von 61±8,7%, für NBM+PEG ein BIC von 67,7±16,9% und für SBC+PEG ein BIC von 66,9±17,8%. Weder SBC noch NBM beeinträchtigen die frühe Osseointegration, obwohl beide Knochenersatzmaterialien ein unterschiedliches Resorptionsverhalten zeigten (Mihatovic et al. 2011).

Die Schlussfolgerung aus der Mihatovic Studie, dass SBC und NBM Partikel die Osseointegration auf ähnliche Weise beeinflussen, kann und darf jedoch nicht auf die hier vorliegende Studie übertragen werden. Denn es ist darauf hinzuweisen. dass Unterund Oberkiefer eine unterschiedliche Knochenmorphologie aufweisen und somit kein direkter Vergleich angeführt werden kann. Um eine Aussage über die alleinige Fähigkeit zur frühen Osseointegration des Knochenersatzmaterials treffen zu können, wäre es daher sinnvoll, NBM+CM, SBC+CM, NBM+PEG und SBC+PEG unter denselben Voraussetzungen im Hundeoberkiefer auf deren quantitative und qualitative Eigenschaften zu testen.

4.3 Diskussion der Arbeitshypothesen

In der vorliegenden Studie konnte belegt werden, dass die physikalischchemischen Eigenschaften der PEG Membran einen statistisch-bedeutsamen Einfluss auf die Quantität des Knochenregenerats nahmen (siehe Tabelle 5: p<0,05).

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Membranen wiesen keinen statistisch-relevanten Unterschied, bezogen auf die Qualität des Knochenregenerats, auf. Beim Vergleich der beiden Membranen stellte sich jedoch bei Verwendung von NBM+AB das MT>NMT Verhältnis in der PEG-Gruppe vergrößert dar. Eine analoge Beobachtung für SBC+AB konnte nicht angestellt werden (vergl. Tabelle 5). Man könnte spekulieren, dass das Verhältnis MT / NMT in der SBC+AB+PEG durch die Eigenschaft der SBC-Partikel beeinflusst wird, denn bei histologischer Beobachtung schienen die SBC-Partikel im direkten Kontakt zu NMT zu stehen (Abb. 5a-5c). Somit wäre die Relevanz der Membran in diesem Fall nicht mehr zu beurteilen. Des Weiteren steht nach Studien von Cordaro und Lindgren die Verwendung von SBC mit erhöhter NMT in Verbindung (Cordaro et al. 2008; Lindgren et al. 2010).

Statistisch gesehen bleibt festzuhalten, dass die verwendeten Knochenersatzmaterialien einen annähernd gleichen Einfluss auf die Quantität des Knochenregenerats nahmen. Auch der Einfluss der Knochenersatzmaterialien auf die Qualität des Knochenregenerats war ähnlich.

Ferner zeigten die physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Membranen als auch die physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Knochenersatzmaterialien keinen statistisch-bedeutsamen Unterschied auf die frühe Osseointegration.

5 Schlussfolgerungen

Abschließend kann aus der vorliegenden Studie geschlussfolgert werden, dass alle aufgeführten Augmentationsverfahren eine Knochenregeneration und Osseointegration von modSLA Titanimplantaten unterstützen.

Die Verwendung der PEG-Membran steht hingegen bei zweizeitigem Vorgehen mit vermehrtem Knochenregenerat in Verbindung. Eine Tendenz zur verbesserten Osseointegration lässt sich erahnen, kann statistisch jedoch nicht belegt werden.

6 Literaturverzeichnis

Albrektsson, T. and C. Johansson (2001). "Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration." <u>Eur Spine J</u> **10 Suppl 2**: S96-101.

Anderson, A. (1970). "The Beagle as an experimental dog." <u>The lowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.</u>

Artzi, Z., et al. (2005). "The amount of newly formed bone in sinus grafting procedures depends on tissue depth as well as the type and residual amount of the grafted material." <u>J Clin Periodontol</u> **32**(2): 193-199.

Artzi, Z., et al. (2010). "Simultaneous versus two-stage implant placement and guided bone regeneration in the canine: histomorphometry at 8 and 16 months." <u>J Clin Periodontol</u> **37**(11): 1029-1038.

Becker, J., et al. (2009). "Use of a new cross-linked collagen membrane for the treatment of dehiscence-type defects at titanium implants: a prospective, randomized-controlled doubleblinded clinical multicenter study." Clin Oral Implants Res **20**(7): 742-749.

Berglundh, T. and A. Stavropoulos (2012). "Preclinical in vivo research in implant dentistry. Consensus of the eighth European workshop on periodontology." <u>J Clin Periodontol</u> **39 Suppl 12**: 1-5.

Blanco, J., et al. (2005). "Long-term results and survival rate of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year case series prospective study." <u>Clin Oral Implants Res</u> **16**(3): 294-301.

Bornstein, M. M., et al. (2007). "Effect of two different bioabsorbable collagen membranes on guided bone regeneration: a comparative histomorphometric study in the dog mandible." <u>J Periodontol</u> **78**(10): 1943-1953.

Branemark, P. I., et al. (1969). "Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies."

Scand J Plast Reconstr Surg 3(2): 81-100.

Branemark, P. I., et al. (1977). "Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period." <u>Scand J Plast Reconstr Surg Suppl</u> **16**: 1-132.

Brunel, G., et al. (1996). "Regeneration of rat calvarial defects using a bioabsorbable membrane technique: influence of collagen cross-linking." J Periodontol **67**(12): 1342-1348.

Bunyaratavej, P. and H. L. Wang (2001). "Collagen membranes: a review." <u>J Periodontol</u> **72**(2): 215-229.

Buser, D., et al. (1993). "Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. 1. Surgical procedure in the maxilla." Int J Periodontics Restorative Dent **13**(1): 29-45.

Buser, D., et al. (1996). "Lateral ridge augmentation using autografts and barrier membranes: a clinical study with 40 partially edentulous patients." J Oral Maxillofac Surg **54**(4): 420-432; discussion 432-423. Chiapasco, M. and M. Zaniboni (2009). "Clinical outcomes of GBR procedures to correct periimplant dehiscences and fenestrations: a systematic review." <u>Clin Oral Implants Res</u> **20 Suppl 4**: 113-123.

Chiriac, G., et al. (2005). "Autogenous bone chips: influence of a new piezoelectric device (Piezosurgery) on chip morphology, cell viability and differentiation." <u>J Clin Periodontol</u> **32**(9): 994-999.

Coonts, B. A., et al. (1998). "Biodegradation and biocompatibility of a guided tissue regeneration barrier membrane formed from a liquid polymer material." J Biomed Mater Res **42**(2): 303-311.

Cordaro, L., et al. (2008). "Maxillary sinus grafting with Bio-Oss or Straumann Bone Ceramic: histomorphometric results from a randomized controlled multicenter clinical trial." <u>Clin Oral Implants Res</u> **19**(8): 796-803.

Cordaro, L., et al. (2011). "Effect of bovine bone and collagen membranes on healing of mandibular bone blocks: a prospective randomized controlled study." <u>Clin Oral Implants Res</u> **22**(10): 1145-1150.

Corrente, G., et al. (2000). "Long-term evaluation of osseointegrated implants in regenerated and nonregenerated bone." Int J Periodontics Restorative Dent **20**(4): 390-397.

D, B. (2009). "20 Years of guided bone regeneration in implant dentistry, second edition." Quintessenz Publishing Co.

Dahlin, C., et al. (1991). "Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study." <u>Clin Oral Implants Res</u> **2**(4): 159-165.

Dahlin, C., et al. (1990). "Healing of maxillary and mandibular bone defects using a membrane technique. An experimental study in monkeys." <u>Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg</u> **24**(1): 13-19.

Dahlin, C., et al. (1988). "Healing of bone defects by guided tissue regeneration." <u>Plast Reconstr Surg</u> **81**(5): 672-676.

Dahlin, C., et al. (1989). "Generation of new bone around titanium implants using a membrane technique: an experimental study in rabbits." Int J Oral Maxillofac Implants **4**(1): 19-25.

Davarpanah, M., et al. (1991). "[Bone regeneration in implantology. The use of Gore-Tex membranes: GTAM]." <u>J Parodontol</u> **10**(2): 169-176.

Donath, K. (1985). "The diagnostic value of the new method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue (Sage-Schliff (sawing and grinding) technique)." <u>Pathol Res Pract</u> **179**(6): 631-633.

Elbert, D. L., et al. (2001). "Protein delivery from materials formed by self-selective conjugate addition reactions." J Control Release **76**(1-2): 11-25.

Esposito, M., et al. (2009). "Interventions for replacing missing teeth: horizontal and vertical bone augmentation techniques for dental implant treatment." <u>Cochrane Database Syst Rev(4)</u>: CD003607.
Fleisher, N., et al. (1988). "Regeneration of lost attachment apparatus in the dog using Vicryl absorbable mesh (Polyglactin 910)." Int J Periodontics Restorative Dent 8(2): 44-55.

Fogle, B. (1999). "Die BLV Enzyklopädie der Hunde." BLV Verlagsgesellschaft mbH, München, Wien, Zürich 2. Auflage.

Froum, S. J., et al. (2008). "Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to anorganic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study." Int J Periodontics Restorative Dent 28(3): 273-281.

Fugazzotto, P. A. (1997). "Success and failure rates of osseointegrated implants in function in regenerated bone for 6 to 51 months: a preliminary report." Int J Oral Maxillofac Implants 12(1): 17-24.

Giannobile, W. V., et al. (1994). "Comparison of canine and non-human primate animal models for periodontal regenerative therapy: results following a single administration of PDGF/IGF-I." J Periodontol 65(12): 1158-1168.

Glass, Y., et al. (2008). "Glossar der Grundbegriffe für die Praxis. Knochenersatz- und Aufbau-Materialien."

Parodontologie 19(4): 465-474.

Gopferich, A. (1996). "Mechanisms of polymer degradation and erosion." Biomaterials 17(2): 103-114.

Gottlow, J. (1993). "Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: initial healing and long-term results." J Periodontol 64(11 Suppl): 1157-1165.

Gottlow, J., et al. (1994). "Periodontal tissue response to a new bioresorbable guided tissue regeneration device: a longitudinal study in monkeys." Int J Periodontics Restorative Dent 14(5): 436-449.

Gottlow, J., et al. (1994). "Guided tissue regeneration using a bioresorbable matrix barrier." Pract Periodontics Aesthet Dent 6(2): 71-78; quiz 80.

Habermehl, L. (1975). "Die Altersbestimmung bei Haus- und Labortieren." Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg 2. Auflage.

Hammerle, C. H., et al. (2008). "Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases." Clin Oral Implants Res 19(1): 19-25.

Herten, M., et al. (2009). "Biodegradation of different synthetic hydrogels made of polyethylene glycol hydrogel/RGD-peptide modifications: an immunohistochemical study in rats." Clin Oral Implants Res 20(2): 116-125.

HJ, B. and B. KW (1993). "Zahnheilkunde für die Kleintierpraxis." Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Hjorting-Hansen, E. (2002). "Bone grafting to the jaws with special reference to reconstructive preprosthetic surgery. A historical review." Mund Kiefer Gesichtschir 6(1): 6-14.

Holst, S., et al. (2005). "Implant-supported prosthetic treatment in cases with hard- and softtissue defects." Quintessence Int 36(9): 671-678.

Hutmacher, D., et al. (1996). "A review of material properties of biodegradable and bioresorbable polymers and devices for GTR and GBR applications." Int J Oral Maxillofac Implants **11**(5): 667-678.

Imbronito, A. V., et al. (2002). "Healing of alveolar bone in resorbable and non-resorbable membrane-protected defects. A histologic pilot study in dogs." <u>Biomaterials</u> **23**(20): 4079-4086.

Jensen, S. S. and H. Terheyden (2009). "Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials." Int J Oral Maxillofac Implants **24 Suppl**: 218-236.

Jensen, S. S., et al. (2007). "Evaluation of a novel biphasic calcium phosphate in standardized bone defects: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs." <u>Clin Oral Implants Res</u> **18**(6): 752-760.

Jung, R. E., et al. (2009). "A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants." <u>Clin Oral Implants Res</u> **20**(2): 162-168.

Jung, R. E., et al. (2009). "A randomized, controlled clinical trial to evaluate a new membrane for guided bone regeneration around dental implants." <u>Clin Oral Implants Res</u> **20**(2): 162-168.

Jung, R. E., et al. (2011). "Guided bone regeneration with a synthetic biodegradable membrane: a comparative study in dogs." Clin Oral Implants Res **22**(8): 802-807.

Jung, R. E., et al. (2009). "A feasibility study evaluating an in situ formed synthetic biodegradable membrane for guided bone regeneration in dogs." <u>Clin Oral Implants Res</u> **20**(2): 151-161.

Jung, R. E., et al. (2006). "Evaluation of an in situ formed synthetic hydrogel as a biodegradable membrane for guided bone regeneration." Clin Oral Implants Res **17**(4): 426-433.

Juodzbalys, G., et al. (2007). "A 5-year follow-up study on one-stage implants inserted concomitantly with localized alveolar ridge augmentation." <u>J Oral Rehabil</u> **34**(10): 781-789.

Kao, S. T. and D. D. Scott (2007). "A review of bone substitutes." <u>Oral Maxillofac Surg Clin North Am</u> **19**(4): 513-521, vi.

Kasemo, B. (1983). "Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects." <u>J Prosthet Dent</u> **49**(6): 832-837.

Khang, W., et al. (2001). "A multi-center study comparing dual acid-etched and machinedsurfaced implants in various bone qualities." <u>J Periodontol</u> **72**(10): 1384-1390.

Kodama, T., et al. (1989). "The effect of various concentrations of collagen barrier on periodontal wound healing." <u>J Periodontol</u> **60**(4): 205-210.

Latimer, E. and S. Reingold (1998). "English Foxhound, complete & reliable guide: A complete and Reliable Handbook." T.F.H. Publications. Laurell, L., et al. (1994). "Clinical use of a bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy. Case series." <u>J Periodontol</u> **65**(10): 967-975.

Lee, A., et al. (2009). "Sandwich bone augmentation for predictable horizontal bone augmentation." Implant Dent **18**(4): 282-290.

Lekholm, U., et al. (1993). "The role of early versus late removal of GTAM membranes on bone formation at oral implants placed into immediate extraction sockets. An experimental study in dogs."

Clin Oral Implants Res 4(3): 121-129.

Lietz, T. (2007). "Minischrauben-Aspekte zur Bewertund und Auswahl der verschiedenen Systeme. In Ludung B (Hrsg): Mini-Implantate in der Kieferorthopädie. Innovative Verankerungskonzepte." Quintessenz verlags GmbH, Berlin, Chicago, Barcelona: 11-61.

Lindgren, C., et al. (2010). "Back-scattered electron imaging and elemental analysis of retrieved bone tissue following sinus augmentation with deproteinized bovine bone or biphasic calcium phosphate." Clin Oral Implants Res **21**(9): 924-930.

Locci, P., et al. (1997). "Phenotype expression of gingival fibroblasts cultured on membranes used in guided tissue regeneration." J Periodontol **68**(9): 857-863.

Lundgren, D., et al. (1994). "The use of a new bioresorbable barrier for guided bone regeneration in connection with implant installation. Case reports." <u>Clin Oral Implants Res</u> **5**(3): 177-184.

Machtei, E. E. (2001). "The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis." <u>J Periodontol</u> **72**(4): 512-516.

Machtei, E. E. (2001). "The effect of membrane exposure on the outcome of regenerative procedures in humans: a meta-analysis." J Periodontol **72**(4): 512-516.

Magnusson, I., et al. (1988). "New attachment formation following controlled tissue regeneration using biodegradable membranes." <u>J Periodontol</u> **59**(1): 1-6.

Maiorana, C., et al. (2005). "Reduction of autogenous bone graft resorption by means of bio-oss coverage: a prospective study." Int J Periodontics Restorative Dent **25**(1): 19-25.

Mayfield, L., et al. (1997). "Guided bone regeneration in dental implant treatment using a bioabsorbable membrane." <u>Clin Oral Implants Res</u> **8**(1): 10-17.

McAllister, B. S. and K. Haghighat (2007). "Bone augmentation techniques." J Periodontol **78**(3): 377-396.

Mettler, L., et al. (2004). "A randomized, prospective, controlled, multicenter clinical trial of a sprayable, site-specific adhesion barrier system in patients undergoing myomectomy." <u>Fertil Steril</u> **82**(2): 398-404.

Mihatovic, I., et al. (2012). "Influence of two barrier membranes on staged guided bone regeneration and osseointegration of titanium implants in dogs. Part 2: augmentation using bone graft substitutes." <u>Clin Oral Implants Res</u> **23**(3): 308-315.

Minabe, M., et al. (1989). "Different cross-linked types of collagen implanted in rat palatal gingiva."

<u>J Periodontol</u> **60**(1): 35-43.

Mordenfeld, A., et al. (2010). "Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone." <u>Clin Oral Implants Res</u> **21**(9): 961-970.

Mundell, R. D., et al. (1993). "Osseous guided tissue regeneration using a collagen barrier membrane."

<u>J Oral Maxillofac Surg</u> **51**(9): 1004-1012.

Nevins, M. and J. T. Mellonig (1992). "Enhancement of the damaged edentulous ridge to receive dental implants: a combination of allograft and the GORE-TEX membrane." Int J Periodontics Restorative Dent **12**(2): 96-111.

Nickel, R., et al. "Lehrbuch der Antomie der Haustiere, Band I, Bewegungsapparat." Paul Parey Verlag, Berlin, Hamburg 6. Auflage.

Nobuto, T., et al. (2005). "Microvascular response in the periosteum following mucoperiosteal flap surgery in dogs: angiogenesis and bone resorption and formation." J Periodontol **76**(8): 1346-1353.

Paul, B. F., et al. (1992). "Use of a collagen barrier to enhance healing in human periodontal furcation defects." Int J Periodontics Restorative Dent **12**(2): 123-131.

Piattelli, A., et al. (1998). "Early tissue reactions to polylactic acid resorbable membranes: a histological and histochemical study in rabbit." <u>Biomaterials</u> **19**(10): 889-896.

Pitaru, S., et al. (1988). "Partial regeneration of periodontal tissues using collagen barriers. Initial observations in the canine." J Periodontol **59**(6): 380-386.

Postlethwaite, A. E., et al. (1978). "Chemotactic attraction of human fibroblasts to type I, II, and III collagens and collagen-derived peptides." <u>Proc Natl Acad Sci U S A</u> **75**(2): 871-875.

Quteish, D. and A. E. Dolby (1992). "The use of irradiated-crosslinked human collagen membrane in guided tissue regeneration." J Clin Periodontol **19**(7): 476-484.

Rateitschak, K. and H. Wolf (1984). "Parodontologie." <u>Thieme-Verlag</u>.

Rayan, G. M., et al. (1991). "A comparison of human and animal mouth flora." <u>J Okla State Med Assoc</u> **84**(10): 510-515.

Rothamel, D., et al. (2005). "Biodegradation of differently cross-linked collagen membranes: an experimental study in the rat." <u>Clin Oral Implants Res</u> **16**(3): 369-378.

Rothamel, D., et al. (2004). "Biocompatibility of various collagen membranes in cultures of human PDL fibroblasts and human osteoblast-like cells." <u>Clin Oral Implants Res</u> **15**(4): 443-449.

Saxe, S. R., et al. (1967). "Oral debris, calculus, and periodontal disease in the beagle dog." <u>Periodontics</u> **5**(5): 217-225.

Scantlebury, T. V. (1993). "1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration."

<u>J Periodontol</u> 64(11 Suppl): 1129-1137.

Schenk, R., et al. "Preparation of calcified tissues for light mircroscopy. In: Dickson GR 8ed.) Methods of calcified tissue preparation." Elsevier-Verlag, Amsterdam **1-56**.

Schenk, R. K., et al. (1994). "Healing pattern of bone regeneration in membrane-protected defects: a histologic study in the canine mandible." Int J Oral Maxillofac Implants **9**(1): 13-29.

Schwarz, F., et al. (2007). "Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: an immunohistochemical study in dogs." <u>J Periodontol</u> **78**(11): 2171-2184.

Schwarz, F., et al. (2007). "Bone regeneration in dehiscence-type defects at chemically modified (SLActive) and conventional SLA titanium implants: a pilot study in dogs." <u>J Clin Periodontol</u> **34**(1): 78-86.

Schwarz, F., et al. (2010). "Impact of guided bone regeneration and defect dimension on wound healing at chemically modified hydrophilic titanium implant surfaces: an experimental study in dogs."

J Clin Periodontol 37(5): 474-485.

Schwarz, F., et al. (2006). "Angiogenesis pattern of native and cross-linked collagen membranes: an immunohistochemical study in the rat." <u>Clin Oral Implants Res</u> **17**(4): 403-409.

Schwarz, F., et al. (2008). "Immunohistochemical characterization of guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using different barrier membranes: an experimental study in dogs." <u>Clin Oral Implants Res</u> **19**(4): 402-415.

Schwarz, F., et al. (2008). "Immunohistochemical characterization of guided bone regeneration at a dehiscence-type defect using different barrier membranes: an experimental study in dogs." <u>Clin Oral Implants Res</u> **19**(4): 402-415.

Seibert, J. and S. Nyman (1990). "Localized ridge augmentation in dogs: a pilot study using membranes and hydroxyapatite." J Periodontol **61**(3): 157-165.

Simion, M., et al. (1999). "Effect of different microstructures of e-PTFE membranes on bone regeneration and soft tissue response: a histologic study in canine mandible." <u>Clin Oral Implants Res</u> **10**(2): 73-84.

STrunz, V. (1985). "Enossales Implantationsmaterial in der Mund-Kieferchirurgie." Carl Hanser Verlag.

Tatakis, D. N., et al. (1999). "Devices for periodontal regeneration." <u>Periodontol 2000</u> **19**: 59-73. Thoma, D. S., et al. (2009). "Evaluation of a new biodegradable membrane to prevent gingival ingrowth into mandibular bone defects in minipigs." <u>Clin Oral Implants Res</u> **20**(1): 7-16.

Vaage, J., et al. (1997). "Tumour uptake of doxorubicin in polyethylene glycol-coated liposomes and therapeutic effect against a xenografted human pancreatic carcinoma." <u>Br J Cancer</u> **75**(4): 482-486.

Van der Zee, E., et al. (2004). "Effect of GBR and fixture installation on gingiva and bone levels at adjacent teeth." <u>Clin Oral Implants Res</u> **15**(1): 62-65.

Vollmerhaus, B., et al. (1996). "[Biological role of movement in the temporomandibular joint in sheepdogs and house cats]." <u>Tierarztl Prax **24**(1)</u>: 73-78.

von Arx, T., et al. (2005). "Membrane durability and tissue response of different bioresorbable barrier membranes: a histologic study in the rabbit calvarium." Int J Oral Maxillofac Implants **20**(6): 843-853.

von Arx, T. and D. Buser (2006). "Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients." Clin Oral Implants Res **17**(4): 359-366.

Warrer, K., et al. (1992). "Guided tissue regeneration using biodegradable membranes of polylactic acid or polyurethane." <u>J Clin Periodontol</u> **19**(9 Pt 1): 633-640.

Warrer, L., et al. (1991). "Guided tissue regeneration ensures osseointegration of dental implants placed into extraction sockets. An experimental study in monkeys." <u>Clin Oral Implants Res</u> **2**(4): 166-171.

Wechsler, S., et al. (2008). "A novel, tissue occlusive poly(ethylene glycol) hydrogel material." J Biomed Mater Res A **85**(2): 285-292.

Wilmes, B., et al. (2006). "Parameters affecting primary stability of orthodontic mini-implants." <u>J Orofac Orthop</u> **67**(3): 162-174.

Yaffe, A., et al. (1984). "Restoration of periodontal attachment employing enriched collagen solution in the dog." <u>J Periodontol</u> **55**(11): 623-628.

Zahedi, S., et al. (1998). "Evaluation of a diphenylphosphorylazide-crosslinked collagen membrane for guided bone regeneration in mandibular defects in rats." <u>J Periodontol</u> **69**(11): 1238-1246.

Zitzmann, N. U., et al. (1997). "Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration." Int J Oral Maxillofac Implants **12**(6): 844-852.

Zitzmann, N. U., et al. (1999). "Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration." <u>J Clin Periodontol</u> **26**(10): 673-682.

Zitzmann, N. U., et al. (2001). "Alveolar ridge augmentation with Bio-Oss: a histologic study in humans." Int J Periodontics Restorative Dent **21**(3): 288-295.

7 Anhang

Gruppenstatistik

 Tabelle 6a:
 Gruppenstatistik:
 Vergleich
 NBM+AB+CM
 vs.
 NBM+AB+PEG

		Levene- Varianzg	Test der Ileichheit
		F	Signifikanz
BIC	Varianzen sind gleich	,120	,737
	Varianzen sind nicht gleich		
DL	Varianzen sind gleich	3,731	,085
	Varianzen sind nicht gleich		
AA	Varianzen sind gleich	, 01 9	,894
	Varianzen sind nicht gleich		
BGS	Varianzen sind gleich	, 581	,466
	Varianzen sind nicht gleich		
МΤ	Varianzen sind gleich	,043	,841
	Varianzen sind nicht gleich		
NMT	Varianzen sind gleich	, 00 3	,956
	Varianzen sind nicht gleich		

Tabelle 6b: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+CM vs. NBM+AB+PEG

r							
			T-Test für die Mittelwertgleichheit				
				Sig.	Mittlere	Standardfehler der	
		Т	df	(2-seitig)	Differenz	Differenz	
BIC	Varianzen sind gleich	-1,396	9	,196	-15,09833	10,81482	
	Varianzen sind nicht gleich	-1,439	8,898	,184	-15,09833	10,49009	
DL	Varianzen sind gleich	,552	9	,595	,40033	,72549	
	Varianzen sind nicht gleich	,504	4,381	,639	,40033	,79476	
AA	Varianzen sind gleich	-,237	9	,818,	-,67567	2,84931	
	Varianzen sind nicht gleich	-,240	8,915	,816	-,67567	2,81924	
BGS	Varianzen sind gleich	-,027	9	,979	-,00633	,23709	
	Varianzen sind nicht gleich	-,028	8,649	,978	-,00633	,22794	
MT	Varianzen sind gleich	-,431	9	,677	-,73300	1,70202	
	Varianzen sind nicht gleich	-,430	8,584	,678	-,73300	1,70491	
NMT	Varianzen sind gleich	,056	9	,957	,06833	1,22658	
	Varianzen sind nicht gleich	,056	8,924	,956	,06833	1,21306	

Test bei unabhängigen Stichproben

	rescuer undurrangiger Stichprober				
		T-Test für die Mittelwortgleichbeit			
		95% Konfider	nzintervall der		
		Diffe	erenz		
		Untere	Obere		
BIC	Varianzen sind gleich	-39, 56315	9,36648		
	Varianzen sind nicht gleich	-38,87026	8,67360		
DL	Varianzen sind gleich	-1,24084	2,04151		
	Varianzen sind nicht gleich	-1,73258	2,53325		
AA	Varianzen sind gleich	-7,12125	5,76992		
	Varianzen sind nicht gleich	-7,06246	5,71113		
BGS	Varianzen sind gleich	-,54267	,53001		
	Varianzen sind nicht gleich	-,52517	,51251		
МΤ	Varianzen sind gleich	-4,58324	3,11724		
	Varianzen sind nicht gleich	-4, 61 8 4 3	3,15243		
NMT	Varianzen sind gleich	-2,70639	2,84306		
	Varianzen sind nicht gleich	-2,67939	2,81606		

 Tabelle 6c:
 Gruppenstatistik:
 Vergleich
 NBM+AB+CM
 vs.
 NBM+AB+PEG

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 7a: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+CM vs. SBC+AB+CM

	rest ber undbriding	gai Stichpiona	
		Levene-Test der Varianzgleichheit	
		F	Signifikanz
BIC	Varianzen sind gleich	,018	,898
	Varianzen sind nicht gleich		
DL	Varianzen sind gleich	,044	,839
	Varianzen sind nicht gleich		
AA	Varianzen sind gleich	2,128	,183
	Varianzen sind nicht gleich		
BGS	Varianzen sind gleich	,240	,638
	Varianzen sind nicht gleich		
ΜT	Varianzen sind gleich	,945	, 359
	Varianzen sind nicht gleich		
NMT	Varianzen sind gleich	,601	, 461
	Varianzen sind nicht gleich		

Tabelle 7b:	Gruppenstatistik:	Vergleich	NBM+AB+CM vs.	SBC+AB+CM
-------------	-------------------	-----------	---------------	-----------

		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
		Т	df	Sig. (2-seitig)	Mittlere Differenz	Standardfehler der Differenz
BIC	Varianzen sind gleich	-,264	8	,799	-2,40400	9,11825
	Varianzen sind nicht gleich	-,264	7,990	,799	-2,40400	9,11825
DL	Varianzen sind gleich	,513	8	,622	,55000	1,07251
	Varianzen sind nicht gleich	,513	7,981	,622	,55000	1,07251
AA	Varianzen sind gleich	,869	8	,410	1,95400	2,24929
	Varianzen sind nicht gleich	,869	6,150	,418	1,95400	2,24929
BGS	Varianzen sind gleich	-,636	8	,542	-,13400	,21059
	Varianzen sind nicht gleich	-,636	7,713	,543	-,13400	,21059
МΤ	Varianzen sind gleich	,538	8	,605	,79400	1,47470
	Varianzen sind nicht gleich	,538	6,500	,608	,79400	1,47470
NMT	Varianzen sind gleich	1,165	8	,278	1,30200	1,11785
	Varianzen sind nicht gleich	1,165	7,812	,278	1,30200	1,11785

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 7c: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+CM vs. SBC+AB+CM

	.	<u>y</u>	-
		T-Test für die Mittelwertgleichheit	
		95% Konfidenzintervall der Differenz	
		Untere	Obere
BIC	Varianzen sind gleich	-23,43073	18,62273
	Varianzen sind nicht gleich	-23, 43531	18,62731
DL	Varianzen sind gleich	-1,92320	3,02320
	Varianzen sind nicht gleich	-1,92421	3,02421
AA	Varianzen sind gleich	-3, 23287	7,14087
	Varianzen sind nicht gleich	-3, 51 7 40	7,42540
BGS	Varianzen sind gleich	-,61963	,35163
	Varianzen sind nicht gleich	-,62280	,35480
МΤ	Varianzen sind gleich	-2,60666	4,19466
	Varianzen sind nicht gleich	-2,74820	4,33620
NMT	Varianzen sind gleich	-1,27577	3,87977
	Varianzen sind nicht gleich	-1,28660	3,89060

Tabelle 8a: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+CM vs. SBC+AB+PEG

	reet ner unannang.	g en e de inprese e	•
		Levene- Varianzo	⊤est der Ileichheit
		F	Signifikanz
BIC	Varianzen sind gleich	,801	, 394
	Varianzen sind nicht gleich		
DL	Varianzen sind gleich	,014	,907
	Varianzen sind nicht gleich		
AA	Varianzen sind gleich	3,082	,113
	Varianzen sind nicht gleich		
BGS	Varianzen sind gleich	,775	, 402
	Varianzen sind nicht gleich		
МΤ	Varianzen sind gleich	,624	, 450
	Varianzen sind nicht gleich		
NMT	Varianzen sind gleich	,022	, 884
	Varianzen sind nicht gleich		

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 8b: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+CM vs. SBC+AB+PEG

		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
				Sig.	Mittlere	Standardfehler der
		Т	df	(2-seitig)	Differenz	Differenz
BIC	Varianzen sind gleich	-,803	9	,443	-8,69500	10,82782
	Varianzen sind nicht gleich	-,828	8,894	,429	-8,69500	10,50106
DL	Varianzen sind gleich	-1,075	9	,311	-1,02967	,95826
	Varianzen sind nicht gleich	-1,055	7,865	,323	-1,02967	,97586
AA	Varianzen sind gleich	-,347	9	,737	-,70400	2,02912
	Varianzen sind nicht gleich	-,326	5,531	,757	-,70400	2,16204
BGS	Varianzen sind gleich	-,189	9	,854	-,05133	,27136
	Varianzen sind nicht gleich	-,199	8,015	,847	-,05133	,25732
MT	Varianzen sind gleich	-,362	9	,725	-,50467	1,39262
	Varianzen sind nicht gleich	-,346	6,436	,740	-,50467	1,45717
NMT	Varianzen sind gleich	-,126	9	,902	-,14500	1,15027
	Varianzen sind nicht gleich	-,126	8,643	,903	-,14500	1,15027

	Test bei unabitangigen Stichproben				
		T-Test für die Mittelwertgleichheit			
		95% Konfidenzintervall der			
		Untere	Obere		
BIC	Varianzen sind gleich	-33,18922	15,79922		
	Varianzen sind nicht gleich	-32, 49307	15,10307		
DL	Varianzen sind gleich	-3, 19741	1,13808		
	Varianzen sind nicht gleich	-3, 28674	1,22741		
AA	Varianzen sind gleich	-5, 29420	3,88620		
	Varianzen sind nicht gleich	-6,10497	4,69697		
BGS	Varianzen sind gleich	-,66519	,56252		
	Varianzen sind nicht gleich	-,64451	,54185		
МΤ	Varianzen sind gleich	-3,65500	2,64567		
	Varianzen sind nicht gleich	-4, 01 2 4 9	3,00316		
NMT	Varianzen sind gleich	-2,74709	2,45709		
	Varianzen sind nicht gleich	-2,76356	2,47356		

 Tabelle 8c:
 Gruppenstatistik:
 Vergleich
 NBM+AB+CM
 vs.
 SBC+AB+PEG

Test bei	unabhän	gig en	Stichproben
----------	---------	--------	-------------

Tabelle 9a: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+PEG vs. SBC+AB+CM

		Levene-Test der Varianzgleichheit				
		F	Signifikanz			
BIC	Varianzen sind gleich	,078	,786			
	Varianzen sind nicht gleich					
DL	Varianzen sind gleich	10,644	, 01 0			
	Varianzen sind nicht gleich					
AA	Varianzen sind gleich	1,860	, 206			
	Varianzen sind nicht gleich					
BGS	Varianzen sind gleich	,116	,741			
	Varianzen sind nicht gleich					
МΤ	Varianzen sind gleich	,427	,530			
	Varianzen sind nicht gleich					
NMT	Varianzen sind gleich	,352	, 568			
	Varianzen sind nicht gleich					

	rest bei unabhängigen Stichproben							
		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
				Sig.	Mittlere	Standardfehler der		
		Т	df	(2-seitig)	Differenz	Differenz		
BIC	Varianzen sind gleich	1,186	9	,266	12,69433	10,70345		
	Varianzen sind nicht gleich	1,227	8,825	,252	12,69433	10,34896		
DL	Varianzen sind gleich	,216	9	,834	,14967	,69349		
	Varianzen sind nicht gleich	,197	4,420	,852	,14967	,75889		
AA	Varianzen sind gleich	1,087	9	,305	2,62967	2,42027		
	Varianzen sind nicht gleich	1,156	7,484	,283	2,62967	2,27452		
BGS	Varianzen sind gleich	-,508	9	,624	-,12767	,25137		
	Varianzen sind nicht gleich	-,519	8,998	,616	-,12767	,24601		
MT	Varianzen sind gleich	1,068	9	,313	1,52700	1,43029		
	Varianzen sind nicht gleich	1,119	8,329	,294	1,52700	1,36460		
NMT	Varianzen sind gleich	1,063	9	,315	1,23367	1,16044		
	Varianzen sind nicht gleich	1,091	8,964	,304	1,23367	1,13038		

Tabelle 9b: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+PEG vs. SBC+AB+CM

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 9c: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+PEG vs. SBC+AB+CM

		T-Test	für die			
		Mittelwertgleichheit				
		95% Konfider	nzintervall der			
		Diffe	renz			
		Untere	Obere			
BIC	Varianzen sind gleich	-11,51855	36,90721			
	Varianzen sind nicht gleich	-10,78770	36,17636			
DL	Varianzen sind gleich	-1,41913	1,71846			
	Varianzen sind nicht gleich	-1,88070	2,18003			
AA	Varianzen sind gleich	-2,84536	8,10470			
	Varianzen sind nicht gleich	-2,67900	7,93833			
BGS	Varianzen sind gleich	-,69631	,44098			
	Varianzen sind nicht gleich	-,68419	,42886			
МТ	Varianzen sind gleich	-1,70854	4,76254			
	Varianzen sind nicht gleich	-1,59825	4,65225			
NMT	Varianzen sind gleich	-1, 391 44	3,85877			
	Varianzen sind nicht gleich	-1,32497	3,79231			

Tabelle 10a: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+PEG vs. SBC+AB+PEG

	red ber ditabilargi	gon ottonprovo	•	
		Levene-Test der		
		Varianzgleichheit		
		F	Signifikanz	
BIC	Varianzen sind gleich	,132	,724	
	Varianzen sind nicht gleich			
DL	Varianzen sind gleich	6,790	,026	
	Varianzen sind nicht gleich			
AA	Varianzen sind gleich	2,625	,136	
	Varianzen sind nicht gleich			
BGS	Varianzen sind gleich	,055	, 81 9	
	Varianzen sind nicht gleich			
МΤ	Varianzen sind gleich	,201	,664	
	Varianzen sind nicht gleich			
NMT	Varianzen sind gleich	,029	,867	
	Varianzen sind nicht gleich			

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 10b: Gruppenstatistik: Vergleich NBM+AB+PEG vs. SBC+AB+PEG

		T-Test für die Mittelwertgleichheit				
				Sig.	Mittlere	Standardfehler der
		Т	df	(2-seitig)	Differenz	Differenz
BIC	Varianzen sind gleich	,553	10	,593	6,40333	11,58579
	Varianzen sind nicht gleich	,553	10,000	,593	6,40333	11,58579
DL	Varianzen sind gleich	-2,326	10	,042	-1,43000	,61478
	Varianzen sind nicht gleich	-2,326	5,814	,060	-1,43000	,61478
AA	Varianzen sind gleich	-,013	10	,990	-,02833	2,18827
	Varianzen sind nicht gleich	-,013	6,815	,990	-,02833	2,18827
BGS	Varianzen sind gleich	-,157	10	,879	-,04500	,28702
	Varianzen sind nicht gleich	-,157	9,709	,879	-,04500	,28702
MT	Varianzen sind gleich	,170	10	,869	,22833	1,34564
	Varianzen sind nicht gleich	,170	8,423	,869	,22833	1,34564
NMT	Varianzen sind gleich	-,184	10	,858	-,21333	1,16244
	Varianzen sind nicht gleich	-,184	9,881	,858	-,21333	1,16244

		T-Test für die Mittelwertgleichheit 95% Konfidenzintervall der Differenz					
Î.							
		Untere	Obere				
BIC	Varianzen sind gleich	-19,41142	32,21809				
	Varianzen sind nicht gleich	-19, 41143	32,21810				
DL	Varianzen sind gleich	-2, 79982	-,06018				
	Varianzen sind nicht gleich	-2,94603	,08603				
AA	Varianzen sind gleich	-4,90410	4,84744				
	Varianzen sind nicht gleich	-5, 231 41	5,17474				
BGS	Varianzen sind gleich	-,68452	,59452				
	Varianzen sind nicht gleich	-,68713	,59713				
МΤ	Varianzen sind gleich	-2, 76993	3,22660				
	Varianzen sind nicht gleich	-2,84777	3,30444				
NMT	Varianzen sind gleich	-2,80342	2,37675				
	Varianzen sind nicht gleich	-2,80766	2,38099				

 Tabelle 10c:
 Gruppenstatistik:
 Vergleich
 NBM+AB+PEG
 vs.
 SBC+AB+PEG

Test bei unabhängigen Stichprobe	n
----------------------------------	---

Tabelle 11a: Gruppenstatistiken: Vergleich SBC+AB+CM vs. SBC+AB+PEG

		Levene-Test der Varianzgleichheit		
		F	Signifikanz	
BIC	Varianzen sind gleich	,754	, 408	
	Varianzen sind nicht gleich			
DL	Varianzen sind gleich	,1 85	,677	
	Varianzen sind nicht gleich			
AA	Varianzen sind gleich	,029	,870	
	Varianzen sind nicht gleich			
BGS	Varianzen sind gleich	,277	, 61 1	
	Varianzen sind nicht gleich			
ΜТ	Varianzen sind gleich	,182	,680	
	Varianzen sind nicht gleich			
NMT	Varianzen sind gleich	,266	, 61 9	
	Varianzen sind nicht gleich			

	i est bei unabhangigen Stichproben							
		T-Test für die Mittelwertgleichheit						
				Sig.	Mittlere	Standardfehler der		
		Т	df	(2-seitig)	Differenz	Differenz		
BIC	Varianzen sind gleich	-,587	9	,572	-6,29100	10,71658		
	Varianzen sind nicht gleich	-,607	8,821	,559	-6,29100	10,36007		
DL	Varianzen sind gleich	-1,691	9	,125	-1,57967	,93427		
	Varianzen sind nicht gleich	-1,668	8,097	,133	-1,57967	,94688		
AA	Varianzen sind gleich	-1,951	9	,083	-2,65800	1,36253		
	Varianzen sind nicht gleich	-1,928	8,184	,089	-2,65800	1,37830		
BGS	Varianzen sind gleich	,291	9	,778	,08267	,28392		
	Varianzen sind nicht gleich	,302	8,710	,770	,08267	,27345		
МТ	Varianzen sind gleich	-1,245	9	,245	-1,29867	1,04319		
	Varianzen sind nicht gleich	-1,250	8,776	,243	-1,29867	1,03863		
NMT	Varianzen sind gleich	-1,340	9	,213	-1,44700	1,07946		
	Varianzen sind nicht gleich	-1,362	8,981	,206	-1,44700	1,06271		

Tabelle 11b: Gruppenstatistiken: Vergleich SBC+AB+CM vs. SBC+AB+PEG

Test bei unabhängigen Stichproben

Tabelle 11c: Gruppenstatistiken: Vergleich SBC+AB+CM vs. SBC+AB+PEG

		T-Test	für die			
		Mittelwertgleichheit				
		95% Konfidenzintervall der				
		Diffe	erenz			
		Untere	Obere			
BIC	Varianzen sind gleich	-30, 53360	17,95160			
	Varianzen sind nicht gleich	-29, 79990	17,21790			
DL	Varianzen sind gleich	-3, 69314	,53381			
	Varianzen sind nicht gleich	-3, 75865	,59931			
AA	Varianzen sind gleich	-5, 74026	,42426			
	Varianzen sind nicht gleich	-5,82395	,50795			
BGS	Varianzen sind gleich	-,55961	,72494			
	Varianzen sind nicht gleich	-,53907	,70440			
МΤ	Varianzen sind gleich	-3, 65853	1,06120			
	Varianzen sind nicht gleich	-3,65738	1,06004			
NMT	Varianzen sind gleich	-3,88891	,99491			
	Varianzen sind nicht gleich	-3,85180	,95780			